Université Toulouse III - Paul Sabatier
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2019 **THESE 2019 TOU3 2070**

THÈSE

En vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Guillaume MARTINROCHE

Le 03 octobre 2019 à Bordeaux

Les Immunoglobulines d'isotype G4 : de la biologie à la clinique

---

Directeurs de thèse : Dr SARRAT Anne & Dr GORET Julien

JURY

Président : Madame Maria MAMANI MATSUDA, Professeur
1er assesseur : Monsieur Pierre DUFFAU, Professeur
2ème assesseur : Madame Marie-Nathalie SARDA, Docteur
3ème assesseur : Monsieur Julien GORET, Docteur
4ème assesseur : Madame Anne SARRAT, Docteur

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1er janvier 2019

Professeurs Emérites

M.	BENOIST H.	Immunologie
M.	BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M.	CAMPISTRON G.	Physiologie
M.	CHAVANT L.	Mycologie
M.	MOULIS C.	Pharmacognosie
M.	ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M.	SALLES B.	Toxicologie
M.	SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme	AYYOUB M.	Immunologie
M.	CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme	DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M.	FAVRE G.	Biochimie
Mme	GANDIA P.	Pharmacologie
M.	PARINI A.	Physiologie
M.	PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme	ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme	ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme	SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M.	VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme	BARRE A.	Biologie
Mme	BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme	BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme	BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme	COUDERC B.	Biochimie
M.	CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M.	FABRE N.	Pharmacognosie
M.	GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme	GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme	MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme	NEPVEU F.	Chimie analytique
M.	SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme	SIXOU S.	Biochimie
M.	SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme	TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M.	VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUAJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERAEVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. OLICHON A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique

Assistant Associé des Universités

Mme MARTINI H	Physiologie

PERSONNEL ENSEIGNANT de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier (version du 1er janvier 2019)

Remerciements

A Madame le Professeur Maria MAMANI MATSUDA

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury ainsi que pour l'attention que vous avez bien voulu porter à mon travail. Soyez assurée de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Pierre DUFFAU

Je vous remercie vivement d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de contribuer à sa pluridsciplinarité en y apportant votre point de vue de clinicien. Votre expérience sur la MAG4 enrichit grandement le jugement de ce travail. Soyez assuré de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Marie-Nathalie SARDA

Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté de siéger dans mon jury de thèse en y apportant votre expérience dans le domaine des immunoglobulines au laboratoire de biologie médicale et votre regard extérieur. Soyez assurée de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Anne SARRAT

Je te remercie pour m'avoir accompagné dans la réalisation de ce travail, dès les premiers jours où l'idée a émergé. Je tiens à t'exprimer toute ma reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de ton enseignement et de ton immense expérience tout au long de mes semestres au laboratoire d'Immunologie. Tu es l'exemple vivant qu'on peut travailler avec rigueur sans être rigide, et faire preuve d'humour à bon escient. Merci pour ton professionnalisme, ta gentillesse et ton humanité.

A Monsieur le Docteur Julien GORET

Je te remercie vivement d'avoir intégré la co-direction de ce travail. Merci pour la confiance que tu m'as témoignée, pour ta disponibilité, tes conseils et ta bienveillance. Ta bonne humeur au quotidien est pour moi un exemple. Je te remercie pour cette co-direction avisée, fidèle et exigeante de laquelle cette thèse doit beaucoup.

Au laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique

Au Professeur Jean-François MOREAU

Je tenais à vous remercier chaleureusement pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience et de vos connaissances monumentales dans bien des domaines.

Au Docteur Cécile BORDES

Je tenais à t'exprimer toute ma reconnaissance pour avoir su me guider dans l'acquisition du savoir-faire nécessaire à la validation biologique de l'auto-immunité. Il me reste tant à apprendre, mais je sais que je serai parfaitement accompagné. Ta compétence et ton efficacité m'inspirent le plus grand respect. Sois assurée de mon estime et de ma gratitude.

A tous les autres biologistes du laboratoire : Jonathan, Marine, Patrick, Mamy, Gwendaline, Laura B, Isabelle.

Je vous remercie tous vivement pour tout ce que vous avez apporté à ma formation.

A Kamal, Valérie, Johanna, Myriam, Elodie, Marina, Françoise, Audrey, Marie-Hélène, Jean-Claude, Ghislaine, Dominique, Emilie… et celles et ceux que j'oublie sûrement.

Sans vous je n'aurais pas tant appris et je serais probablement encore en train de courir dans tous les sens à travers le labo ou dans la chambre froide, à la recherche de tubes, de plaques… On peut compter sur vous.

A mes amis

A Léa et Elodie pour tout notre parcours d'internat débuté à Haut-Lévêque. Nous avons tout traversé, de la découverte de l'internat à la référence des internes. Vos innombrables qualités font de vous des êtres hors pair. Votre amitié n'a pas de prix.

A Simon, Arnaud, Clément, Jérôme, Carine, Camille K, Camille B, Céline, les vieux de la vieille.
A And-Nan, Aurélien, Théodore, Emmanuel, Mathieu, le « Big Five Bordelais ».

A tous mes autres compagnons de route de l'internat :
Maxime, Julian, Marine, Cyrielle, Vivien, Emilie, Julie, Tania, Charlotte B, Sophie, Ludivine A, Ludivine S, Juliette, Damien, Séverine, Victor-Emmanuel, Anne-Sophie… quels cointernes !
Sarah, Alexis, Pierre-Elian, Thibault, Justine, Sacha, Mickael, Maïté, Charlotte C, Cécile, Lucile, Audrey…

Rien n'aurait été pareil sans vous. Tout ce qui est gravé ne s'efface jamais.

A mes parents

Mes plus profonds remerciements vous sont destinés. Tout au long de mon cursus, vous m'avez toujours soutenu, encouragé et aidé. Vous avez su me donner toutes les chances pour réussir. Veuillez trouver, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de vos efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

A ma sœur

Clémence… « Clipouce », depuis ta naissance, et pour toujours, tu es irremplaçable.

A ma famille

Je vous remercie tous chaleureusement de votre présence et de votre soutien. Mention particulière pour mes cousines de 91, nous avons grandi ensemble, tous ces étés de notre enfance à l'âge adulte ont laissé des souvenirs impérissables.

Pour reprendre une citation de Pierre Teilhard de Chardin,

[Sommes-nous] des êtres humains [en train de vivre] une expérience spirituelle [ou bien] des êtres spirituels [en train de vivre] une expérience humaine [?]

Sommaire

Remerciements 4
Sommaire 7
Abréviations 12
Liste des tableaux 15
Liste des figures 18
Introduction 22

Synthèse bibliographique 24
1. Structure de l'IgG4 24
1.1. Structure de base des immunoglobulines 24
1.2. Structure des IgG et de l'IgG4 26
2. Support génétique 28
2.1. Organisation des gènes des immunoglobulines 28
2.2. Du génome à l'IgG4 30
2.1. Origine et place dans l'évolution 30
3. Caractéristiques fonctionnelles générales des IgG4 31
3.1. Caractéristiques de liaison de l'IgG4 aux récepteurs Fcγ 31
3.2. Défaut d'activation du complément par l'IgG4 32
3.3. Régulation de la diffusion de l'IgG4 33
3.4. Interactions Fc-Fc 34
3.5. Fab-Arm Exchange 35
4. Production physiologique des IgG4 : polarisation de la voie Th2 37
5. Implications en pathologie 40
5.1. Infections parasitaires 40
5.2. Réactions d'hypersensibilités et allergies 41
5.3. Auto-immunité 42
5.3.1. La myasthénie à anti-MuSK 43
5.3.2. La polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique 44
5.3.3. Le pemphigus superficiel et le pemphigus vulgaire 45
5.3.4. Le purpura thrombotique thrombocytopénique 46
5.3.5. Autres entités cliniques auto-immunes retrouvant des IgG4 47
5.4. Rejets de greffe liés aux IgG4 48
5.5. Cancer 48
5.5.1. Mélanome cutané 48
5.5.2. Cholangiocarcinome extra-hépatique 49
5.5.3. Myélome IgG4 50
5.6. Maladie associée aux IgG4 50

5.6.1. Epidémiologie 50
5.6.2. Pathogénèse et manifestations cliniques 52
5.6.2.1. Pathogénèse 52
5.6.2.2. Manifestations cliniques 53
5.6.3. Diagnostic 56
5.6.3.1.1. Quand évoquer une MAG4 ? 56
5.6.3.1.2. Les différents tests contributifs dans le diagnostic 56
5.6.3.1.3. Les critères diagnostiques de la MAG4 59
5.6.3.1.4. Diagnostic différentiel de MAG4 62
5.6.4. Traitement et pronostic 65
5.6.4.1. Evaluation prétraitement 65
5.6.4.2. Prise en charge thérapeutique 65
5.6.4.3. Réponse aux traitements 66
5.6.4.4. Pronostic 68
5.7. Déficit en IgG4 68
6. Anticorps monoclonaux thérapeutiques de type IgG4 69
6.1. Natalizumab 72
6.1. Eculizumab et Ravulizumab 72
6.2. Nivolumab et Pembrolizumab 74
6.3. Ixekizumab 75
6.1. Reslizumab 75
6.2. Dupilumab 76
6.3. Emicizumab 77
6.4. Gemtuzumab ozogamicine et Inotuzumab ozogamicine 78
6.5. Galcanezumab 80
6.6. Ibalizumab et Leronlimab 81
L'IgG4 au laboratoire 82
1. Indications du dosage des sous-classes d'IgG et du dosage de l'IgG4 82
2. Conditions préanalytiques et transport 84
3. Caractérisation des immunoglobulines et des IgG4 84
3.1. Méthodes électrophorétiques 84
3.2. Méthodes quantitatives de dosage des IgG4 89
3.2.1. Immunodiffusion radiale 89
3.2.2. ELISA 90
3.2.3. Turbidimétrie et néphélémétrie 91
4. Discordance entre le taux cumulé des sous-classes d'IgG et le taux d'IgG totales 93
5. Taux d'IgG4 faussement abaissé en routine 95
6. Interférences analytiques liées aux IgG4 97
7. IgG4 dans le LCR 97

Chapitre 1 Application des critères prévisionnels CCAE et pertinence du taux d'IgG4 pour le diagnostic de la MAG4 dans une cohorte française 98
1. Introduction 100
2. Matériels et méthodes 102
2.1. Critères de choix des patients 102
2.2. Sélection des patients 102
2.3. Recueil des données relatives aux patients 103
2.4. Evaluation du seuil IgG4 sérique historique à 1,35 g/L 104
2.5. Statistiques 104
3. Résultats 105
3.1. Définition des groupes de patients 105
3.1.1. Groupe MAG4 105
3.1.2. Groupe Hyper-IgG4 non MAG4 105
3.1.3. Groupe contrôle 107
3.2. Caractéristiques des patients 107
3.2.1. Groupe MAG4 107
3.2.2. Groupe Hyper-IgG4 non MAG4 111
3.2.3. Groupe contrôle 112
3.3. Les formes cliniques de la MAG4 chez les patients suivis au CHU de Bordeaux 113
3.4. Comparaison des critères diagnostiques CDC *vs* CCAE pour le groupe « MAG4 » 113
3.5. Etiologies du groupe « Hyper-IgG4 Non MAG4 » 115
3.6. Pertinence du seuil du taux d'IgG4 et du ratio IgG4/IgG totales dans la MAG4 117
3.6.1. Détermination du seuil optimal diagnostique du taux d'IgG4 sériques 117
3.6.2. Détermination du ratio IgG4/IgG totales 119
3.7. Intérêt du suivi du taux d'IgG4 dans la MAG4 120
4. Discussion 123
5. Conclusion 126
6. Références bibliographiques 127
7. Annexes et données complémentaires 128

Chapitre 2 Caractérisation des IgG4 monoclonales et polyclonales par migrations électrophorétiques et dosage néphélémétrique 132
1. Introduction 134
2. Matériels et Méthodes 135
2.1. Extraction de données 135
2.2. Sélection des sérums 135
2.3. Immuno-analyses 136
2.4. Statistiques 136
3. Résultats 137
3.1. Profils de migration des IgG4 137
3.1.1. Dans les gammapathies monoclonales IgG4 137
3.1.2. Dans les pathologies retrouvant des IgG4 polyclonales 138
3.2. Interférence analytique de l'eculizumab SOLIRIS 140
3.3. Discordance entre le taux d'IgG totales (IgGt) et la somme des sous-classes d'IgG (IgGs) 142
3.4. Revue de prescription des sous-classes d'IgG 148
3.4.1. Logigramme de revue des prescriptions des sous-classes d'IgG 149
3.4.2. Fiche de renseignements nécessaires au dosage des sous-classes d'IgG 150
4. Discussion 151
5. Conclusion 154
6. Références bibliographiques 155
7. Annexes et données supplémentaires 156

Discussion générale et perspectives 158
Références bibliographiques 161

Abréviations

Ac : anticorps
ACR : *American College of Rheumatology*
Ag : antigène
ALAT : alanine aminotransférase
ANCA : anticorps anti-cytoplasme de polynucléaires neutrophiles
ASAT : aspartate aminotransférase
BCR : *B-cell receptor*
BHE : barrière hémato-encéphalique
CCAE : critères de classification prévisionnels ACR/EULAR
CD : *cluster of differentiation*
CDC : comprenhensive diagnostic criteria
CDR : régions déterminant la complémentarité
CEREDIH : centre de référence des déficits immunitaires héréditaires
cf. : *confer*
CH : *constant heavy*
CHU : centre hospitalier universitaire
CIM : classification internationale statistique des maladies et des problèmes de santé connexes ou classification internationale des maladies
CL : *constant light*
CNIL : *commission nationale de l'informatique et des libertés*
CNTN1 : contactine 1
CPA : cellule présentatrice de l'antigène
CPA : cellule présentatrice de l'antigène
CRP : protéine C-réactive
DCI: dénomination commune internationale
DSA : *donor specific antibody*
Dsg : desmogléine
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
EMA : Agence Européenne des Médicaments
EULAR : *European League Against Rheumatism*
Fab : *antibody binding Fragment*
FAE : *Fab Arm Exchange*
Fc : fraction cristallisable
FcRn : récepteur néonatal du fragment Fc
FcγR : récepteur du fragment Fc des IgG
FDA : *Food and Drug Administration*
FN : faux négatif

FP : faux positif
FR : Facteur rhumatoïde
GEM : glomérulonéphrite extra-membraneuse
GEPA : granulomatose éosinophilique avec polyangéite
HAS : Haute Autorité de Santé
HE : *coloration* à l'hématoxyline et à l'éosine
HLA : *human leukocyte antigen*
HPN : hémoglobinurie paroxystique nocturne
i. e. : *id est*
IDR : immunodiffusion radiale
Ig : immunoglobuline
IgG1 : immunoglobuline de type G1
IgG2 : immunoglobuline de type G2
IgG3 : immunoglobuline de type G3
IgG4 : immunoglobuline de type G4
IgGs : somme des sous-classes d'IgG dosées individuellement
IgGt : dosage des IgG totales
IL : interleukine
ILD: infiltrat lymphoplasmocytaire dense
IRM : imagerie par résonance magnétique
ISO : *International Organization for Standardization*
ITS : immunothérapie spécifique
IV : intraveineux
K409R : substitution d'une lysine en position 409 par une arginine
kDa : kilodalton
LAL : leucémie aiguë lymphoblastique
LAM : leucémie aiguë myéloblastique
LCR : liquide céphalo-rachidien
MAG4 : maladie associée aux IgG4
MPO : myéloperoxydase
MuSK : *muscle-specific kinase*
N: normal
NABM : nomenclature des actes de biologies médicales
NK : *natural killer*
P331S : substitution d'une proline en position 331 par une sérine
PAI : pancréatite auto-immune
pH : potentiel hydrogène
PIDC : polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique
PLA2 : phospholipase A2

PMSI : programme de médicalisation des systèmes d'information
PNE : polynucléaire éosinophile
PR3 : protéinase 3
PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique
RAC : récepteur à l'acétylcholine
ROC : *receiver operating characteristic*
S228P : substitution d'une sérine en position 228 par une proline
SC : sous-cutané
scFv : fragments variables d'anticorps en simple chaîne
Se : sensibilité
SEP : sclérose en plaques
SGS : syndrome de Goujerot-Sjögren
SHUa : syndrome hémolytique et urémique atypique
Sp : spécificité
SSA : *Sjögren's-syndrome-related antigen A*
SSB: *Sjögren's-syndrome-related antigen B*
TEP : tomographie par émission de positrons
Th : lymphocyte T auxiliaire (*helper*)
Treg : lymphocyte T régulateur
VH : *variable heavy*
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
VL : *variable light*
VN : vrai négatif
VP : vrai positif
VPN : valeur prédictive négative
VPP : valeur prédictive positive

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique

TABLEAU I. PROPRIETES DES SOUS-CLASSES D'IGG 26

TABLEAU II CRITERES CONSIDERES POUR DEFINIR L'AUTO-IMMUNITE A IGG4. 42

TABLEAU III CLASSIFICATION DES MALADIES AUTO-IMMUNES LIEES AUX IGG4. 43

TABLEAU IV REVUE DES MANIFESTATIONS CLINIQUES RETROUVEES DANS LA MALADIE ASSOCIEE AUX IGG4 54

TABLEAU V RECOMMANDATIONS DIAGNOSTIQUES DE 2011 POUR LA MAG4..... 60

TABLEAU VI ORGANES PRINCIPALEMENT ATTEINTS SELON LA CLASSIFICATION ACR/EULAR 2018 DE LA MAG4. 61

TABLEAU VII CRITERES D'EXCLUSION SELON LA CLASSIFICATION ACR/EULAR 2018 DE LA MAG4. 61

TABLEAU VIII DOMAINES, CRITERES D'INCLUSION ET NOMBRE DE POINTS DE COTATION SELON LA CLASSIFICATION ACR/EULAR 2018 DE LA MAG4. 62

TABLEAU IX REVUE DES AC MONOCLONAUX THERAPEUTIQUES DE TYPE IGG4 ET HYBRIDES COMPRENANT UNE PART D'IGG4 71

TABLEAU X CARACTERISTIQUES PRINCIPALES DES METHODES QUANTITATIVES DE DOSAGE DES SOUS-CLASSES D'IGG ... 89

TABLEAU XI TAUX NORMAUX DES IMMUNOGLOBULINES CHEZ L'ADULTE 92

Chapitre 1 : Application des critères prévisionnels CCAE et pertinence du taux d'IgG4 pour le diagnostic de la MAG4 dans une cohorte française

TABLEAU I DONNEES CONCERNANT LES PATIENTS DU GROUPE MAG4. 108

TABLEAU II INDICATIONS CLINIQUES DU DOSAGE DES SOUS-CLASSES D'IGG CHEZ LES PATIENTS RETROUVANT DES IGG4 SUPERIEURES A 1,35 G/L 112

TABLEAU III REPARTITION DES ATTEINTES DE TISSUS CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE MAG4 SUIVIS AU CHU DE BORDEAUX. 113

TABLEAU IV CRITERES DIAGNOSTIQUES CDC APPLIQUES AU GROUPE MAG4 113

TABLEAU V CRITERES DE CLASSIFICATION CCAE APPLIQUES AU GROUPE MAG4..... 114

TABLEAU VI TABLEAU COMPARATIF DES CRITERES DE CLASSIFICATION POUR LA MAG4..... 115

TABLEAU VII REPARTITION DES DIAGNOSTICS DU GROUPE HYPER-IGG4 NON MAG4 115

TABLEAU VIII TABLEAU DE CONTINGENCE DES PATIENTS MAG4 ET CONTROLE EN FONCTION DU SEUIL D'IGG4 D'1,35 G/L..... 117

TABLEAU IX TABLEAU DE CONTINGENCE DES PATIENTS MAG4 ET CONTROLE EN FONCTION DU SEUIL D'IGG4 DE 0,737 G/L..... 118

TABLEAU X TABLEAU DE CONTINGENCE DES PATIENTS MAG4 ET NON MAG4 EN FONCTION DU SEUIL D'IGG4 DE 1,00 G/L..... 119

TABLEAU XI TRAITEMENTS INITIAUX DE 7 PATIENTS DU GROUPE MAG4. 121

TABLEAU XII TAUX D'IGG4 AVANT TRAITEMENT (T0) ET APRES TRAITEMENT (T1) POUR LES PATIENTS DONT LE DOSAGE D'IGG4 A ETE REALISE EN SUIVI..... 122

TABLEAU SXIII DOMAINES ET CRITERES D'INCLUSION SELON LA CLASSIFICATION ACR/EULAR 2018 DE LA MAG4.. 128

TABLEAU SXIV CRITERES D'EXCLUSION SELON LA CLASSIFICATION ACR/EULAR 2018 DE LA MAG4 128

TABLEAU SXV DONNEES BIOLOGIQUES RELATIVES AU GROUPE MAG4 130

Chapitre 2 : Caractérisation des IgG4 monoclonales et polyclonales par migrations électrophorétiques et dosage néphélémétrique

TABLEAU I DONNEES DES PATIENTS AVEC UNE GAMMAPATHIE MONOCLONALE IGG4 137

TABLEAU II PATIENTS AVEC DES IGG4 POLYCLONALES. DIAGNOSTIC, TAUX D'IGG1, IGG2, IGG3, IGG4, SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS) ET DOSAGE DES IGG TOTALES (IGGT) EN G/L..... 138

TABLEAU III CONCENTRATIONS D'ECULIZUMAB LIBRE POUR LES PRELEVEMENTS SERIQUES UTILISES POUR L'ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES ET L'IMMUNOFIXATION SERIQUE..... 140

TABLEAU IV MOYENNES, MEDIANES ET ECART-TYPES DES DOSAGES D'IGG1, IGG2, IGG3, IGG4, IGG TOTALES (IGGT) ET DE LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS). 142

TABLEAU V NOMBRE DE PRELEVEMENTS PAR PALIER DE DIFFERENCE ENTRE LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS) ET LE DOSAGE DES IGG TOTALES (IGGT) 143

TABLEAU VI PROPORTIONS MEDIANES DE CHACUNE DES SOUS-CLASSES IGG AUX DIFFERENTS PALIERS DE DISCORDANCE (EN POURCENTAGE)..... 144

TABLEAU VII REPARTITION DU NOMBRE DE PRESCRIPTIONS ET D'ANNULATIONS PAR ANNEE AINSI QUE LE POURCENTAGE REPRESENTE DE CES ANNULATIONS SUR LE VOLUME GLOBAL. 148

Liste des figures

Synthèse bibliographique

FIGURE 1 ARCHITECTURE DES IMMUNOGLOBULINES 24

FIGURE 2. STRUCTURE DES SOUS-CLASSES D'IGG 27

FIGURE 3 COMPARAISON DES REGIONS CHARNIERE DES IGG1 ET IGG4 27

FIGURE 4. GROUPE DE GENES DE LA REGION C-TERMINALE DES CHAINES LOURDES DES IMMUNOGLOBULINES 28

FIGURE 5. ORGANISATION DES GENES DES IMMUNOGLOBULINES DANS LE GENOME HUMAIN 29

FIGURE 6 CONSTRUCTION DES GENES DES DOMAINES VARIABLES A PARTIR DES BLOCS DE GENES 29

FIGURE 7 LA RECOMBINAISON DE L'ADN LORS DE LA COMMUTATION DE CLASSE D'IMMUNOGLOBULINE 30

FIGURE 8 VUE D'ENSEMBLE DE LA STRUCTURE ET DES PROFILS D'EXPRESSION CELLULAIRE DES RECEPTEURS FC DES IGG31

FIGURE 9 ACTIVATION OU INHIBITION DE LA SIGNALISATION CELLULAIRE. 32

FIGURE 10 DIFFERENCES CONFORMATIONNELLES AU NIVEAU DE LA BOUCLE FG DU CH2 33

FIGURE 11 INTERFACE FC–FC IDENTIFIEE PAR CRISTALLOGRAPHIE 34

FIGURE 12 COMPARAISON DES ACIDES AMINES DES IGG1 ET IGG4 IMPLIQUES DANS LE *FAB-ARM EXCHANGE*..... 35

FIGURE 13. ISOMERES D'IGG4 RESULTANT DU FAB-ARM EXCHANGE 36

FIGURE 14. POLARISATION DE LA VOIE TH2 39

FIGURE 15. MODULATION DE LA REPONSE IMMUNITAIRE DE L'HOTE PAR LES HELMINTHES..... 40

FIGURE 16. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYPERSENSIBILITE IMMEDIATE IGE MEDIEE..... 41

FIGURE 17 MODELE ILLUSTRANT LES INTERACTIONS ENTRE LRP4, MUSK ET AGRINE. 44

FIGURE 18 LOCALISATION DE CASPR AU NIVEAU DES JONCTIONS PARANODALES 44

FIGURE 19 MECANISME MOLECULAIRE D'ACANTHOLYSE DANS LE PEMPHIGUS 45

FIGURE 20 PATHOGENICITE DES ANTICORPS ANTI-ADAMTS13..... 46

FIGURE 21 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES PROTEINES GLOMERULAIRES PLA2R ET THSD7A 47

FIGURE 22 BIOPSIE DE GLANDE LACRYMALE AVEC UN INFILTRAT LYMPHOPLASMOCYTAIRE ET UNE FIBROSE D'ASPECT "STORIFORME". 57

FIGURE 23 COUPE HISTOLOGIQUE DE PANCREAS D'UN PATIENT ATTEINT DE PAI1 60

FIGURE 24 FEUILLE D'EVALUATION DE L'INDEX DE REPONSE POUR LA MAG4 POUR RELEVER L'ACTIVITE DE LA MALADIE LORS DES CONSULTATIONS DE SUIVI. 67

FIGURE 25 SCHEMA SIMPLIFIE DE LA PATHOGENESE DE LA SCLEROSE EN PLAQUES AVEC PLACE DU NATALIZUMAB 72

FIGURE 26 CARACTERISTIQUES STRUCTURALES DE L'ECULIZUMAB ET DU RAVULIZUMAB. 73

FIGURE 27 REGULATION DU COMPLEMENT ET ROLE DE L'ECULIZUMAB ET DU RAVULIZUMAB. 73

FIGURE 28 MECANISME D'ACTION DU NIVOLUMAB. MECANISME SIMILAIRE POUR LE PEMBROLIZUMAB 74

FIGURE 29 MECANISME D'ACTION DE L'IXEKIZUMAB..... 75

FIGURE 30 MECANISME D'ACTION DU RESLIZUMAB 75

FIGURE 31 MECANISME D'ACTION DU DUPILUMAB..... 76

FIGURE 32 MECANISME D'ACTION DE L'EMICIZUMAB..... 77

FIGURE 33 MECANISME D'ACTION DU GEMTUZUMAB OZOGAMICINE 78
FIGURE 34 MECANISME D'ACTION DU GALCANEZUMAB 80
FIGURE 35 MECANISME D'ACTION DE L'IBALIZUMAB..... 81
FIGURE 36 PROFIL DE MIGRATION ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES PLASMATIQUES 85
FIGURE 37 ELECTROPHOREGRAMME DE PROTEINES SERIQUES AVEC UN PROFIL NORMAL..... 86
FIGURE 38 ELECTROPHORESE ET IMMUNOFIXATION DE PATIENTS ATTEINTS DE MAG4 88
FIGURE 39 EXEMPLE DE PLAQUE D'IMMUNODIFFUSION RADIALE POUR LES IGG1..... 90
FIGURE 40 PRINCIPE DE L'IMMUNOCAP 91
FIGURE 41 1-REACTION DE PRECIPITATION 2-PRINCIPE DE NEPHELEMETRIE 91
FIGURE 42 TURBIDIMETRIE VS NEPHELEMETRIE 92
FIGURE 43 COMPARAISON DES IGG TOTALES ET DE LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG..... 94
FIGURE 44 COURBE D'HEIDELBERGER-KENDALL 96

Chapitre 1 : Application des critères prévisionnels CCAE et pertinence du taux d'IgG4 pour le diagnostic de la MAG4 dans une cohorte française

FIGURE 1 ETABLISSEMENT DU GROUPE MAG4 A PARTIR DE L'EXTRACTION DU CODE D289 "SYNDROME D'HYPER IGG4" DU PMSI ET DES DOSSIERS PATIENTS AYANT UN TAUX D'IGG4 SUPERIEUR A 1,35 G/L 105

FIGURE 2 ETABLISSEMENT DU GROUPE HYPER-IGG4 NON MAG4 A PARTIR DES DEMANDES DE DOSAGES D'IGG4 AU LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE ET IMMUNOGENETIQUE DU CHU DE BORDEAUX, ... 106

FIGURE 3 ETABLISSEMENT DU GROUPE CONTROLE 107

FIGURE 4 NOMBRE D'ANNEES ENTRE L'APPARITION ESTIMEE DES SYMPTOMES CLINIQUES ET L'ETABLISSEMENT DU DIAGNOSTIC DE MAG4 110

FIGURE 5 REPARTITION DES SPECIALITES OU SONT SUIVIS LES PATIENTS DU GROUPE MAG4 110

FIGURE 6 REPARTITION DES SERVICES PRESCRIPTEURS DU GROUPE HYPER-IGG4 NON MAG4 112

FIGURE 7 REPARTITION DU NOMBRE DE POINTS SELON LES CRITERES CCAE POUR LE GROUPE MAG4 114

FIGURE 8 REPARTITION DES ETIOLOGIES POUR LE GROUPE HYPER-IGG4 NON MAG4 116

FIGURE 9 BOITES A MOUSTACHES DE LA REPARTITION DU TAUX D'IGG4 DANS LES DEUX GROUPES MAG4 ET CONTROLE 117

FIGURE 10 COURBE ROC POUR LES TAUX D'IGG4 DANS LE DIAGNOSTIC DE MAG4 118

FIGURE 11 COURBE ROC POUR LES RATIOS IGG4/IGGS DANS LE DIAGNOSTIC DE MAG4 119

FIGURE 12 SUPERPOSITION DES COURBES ROC POUR LES TAUX D'IGG4 ET LES RATIOS IGG4/IGGS DANS LE DIAGNOSTIC DE MAG4 120

FIGURE 13. SUIVI LONGITUDINAL DU DOSAGE DES IGG4 (G/L) DE 7 PATIENTS ATTEINTS DE MAG4. 120

FIGURE S14 RESULTATS DES PARAMETRES D'HEMATOLOGIE ET DE BIOCHIMIE DU GROUPE MAG4 129

FIGURE S15 REPRESENTATION SEMI-LOGARITHMIQUE DU SUIVI LONGITUDINAL DU DOSAGE DES IGG4 SERIQUES POUR LES PATIENTS DU GROUPE MAG4 131

Chapitre 2 : Caractérisation des IgG4 monoclonales et polyclonales par migrations électrophorétiques et dosage néphélémétrique

FIGURE 1 ELECTROPHOREGRAMMES ET IMMUNOFIXATIONS SERIQUES DES DEUX PATIENTS AVEC UNE GAMMAPATHIE MONOCLONALE IGG4 137

FIGURE 2 ELECTROPHOREGRAMMES ET IMMUNOFIXATIONS SERIQUES POUR CHACUN DES PATIENTS AVEC DES IGG4 POLYCLONALES. 139

FIGURE 3 ELECTROPHOREGRAMMES DES PROTEINES SERIQUES DU PATIENT AUX CONCENTRATIONS 1151 MG/L ET 615 MG/L D'ECULIZUMAB LIBRE. 141

FIGURE 4 IMMUNOFIXATIONS DES PROTEINES SERIQUES POUR LE PATIENT 14 A DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'ECULIZUMAB LIBRE. 141

FIGURE 5 DIAGRAMME DE DISPERSION DU TAUX D'IGG TOTALES (IGGT) CONTRE LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS) 142

FIGURE 6 REPRESENTATION DES TAUX D'IGG EN FONCTION DES POURCENTAGES DE DIFFERENCE ENTRE LE DOSAGE DES IGG TOTALES (IGGT) ET LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS) 143

FIGURE 7 MEDIANE DU TAUX DE L'IGG CONSIDEREE POUR LES DIFFERENTS PALIERS ET PROPORTION MEDIANE DE LA SOUS-CLASSE CONSIDEREE DANS IGGS POUR LES DIFFERENTS PALIERS. 144

FIGURE 8 COURBES DE TENDANCE EXPONENTIELLES DU TAUX MEDIAN (EN G/L) ET DE LA PROPORTION D'IGG4 (EN %) 145

FIGURE 9 PROPORTIONS MEDIANES DE CHACUNE DES SOUS-CLASSES D'IGG PAR PALIER DE DIFFERENCE ENTRE LE DOSAGE DES IGG TOTALES (IGGT) ET LA SOMME DES SOUS-CLASSES D'IGG (IGGS)..... 146

FIGURE 10 POURCENTAGES DE DIFFERENCE DE LA SOMME DE 3 DES 4 SOUS-CLASSES AVEC LE DOSAGE DES IGG TOTALES SELON LE PALIER DE DIFFERENCE INITIAL. 146

FIGURE 11 REPARTITION DES DIAGNOSTICS ETABLIS CHEZ LES PATIENTS DONT LES DOSAGES DES IGG TOTALES ET DES SOUS-CLASSES D'IGG RETROUVAIENT UNE DIFFERENCE DE PLUS DE 20% 147

FIGURE 12 NOMBRE DE PRESCRIPTIONS DE DOSAGES DE SOUS-CLASSES D'IGG AU CHU DE BORDEAUX 148

FIGURE S13 REPRESENTATION DES COMPARAISONS EN POURCENTAGES ENTRE LA DIFFERENCE MEDIANE ABSOLUE DE LA SOMME DE TROIS SOUS-CLASSES ET LA PROPORTION MEDIANE DE LA SOUS-CLASSE MANQUANTE..... 156

FIGURE S14 REPARTITION DES DIAGNOSTICS ETABLIS CHEZ LES PATIENTS DONT LES DOSAGES DES IGG TOTALES ET DES SOUS-CLASSES D'IGG RETROUVAIENT UNE DIFFERENCE DE PLUS DE 25% 156

FIGURE S15 FEUILLE DE RENSEIGNEMENTS OBLIGATOIRES POUR LE DOSAGE DES SOUS-CLASSES D'IGG QUI SERA ADRESSEE AUX SERVICES CLINIQUES APRES VALIDATION..... 157

Introduction

Les différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines (Ig) qui constituent le répertoire de la réponse humorale sont principalement définies par les séquences codant les domaines constants des chaînes lourdes (Abbas *et al.* 2018). Des quatre sous-classes d'IgG humaines, les immunoglobulines de type G4 (IgG4) constituent la moins abondante dans le sérum. Elles représentent environ 5% des IgG totales (Aalberse *et al.* 2009). Contrairement aux IgG1 dont la structure et les propriétés ont largement été étudiées, l'organisation et les fonctions biologiques des IgG4 sont moins bien comprises. Les propriétés biologiques uniques dont elles disposent néanmoins font d'elles des Ig fascinantes. Très dynamiques, les IgG4 sont impliquées dans un processus continu d'échange de demi-molécules (*i.e.* une chaîne légère lourde et liée). Ce processus, également appelé *Fab-arm exchange*, aboutit généralement à des anticorps asymétriques dotés de deux sites de liaison d'antigènes différents (Vidarsson, Dekkers, et Rispens 2014). Leurs capacités à ne pas activer la voie classique du complément ou bien à imiter l'activité du facteur rhumatoïde (FR) sont d'autres aspects propres aux IgG4.

Dans la mesure où la régulation de la production d'IgG4 dépend de l'aide de cellules T-*helper* de type 2 (Th2), la réponse physiologique IgG4 est largement limitée aux antigènes non microbiens. Cette dépendance Th2 associe les réponses IgG4 et IgE. Cependant, les IgG4 ont tendance à n'apparaître qu'après une immunisation prolongée. Dans le contexte de la réaction d'hypersensibilité induite par les IgE, l'apparition d'anticorps IgG4 est généralement associée à une diminution des symptômes et une efficacité de l'immunothérapie spécifique de désensibilisation. Ces effets favorables sont le reflet d'une production accrue d'interleukine 10 (IL-10) et d'autres cytokines anti-inflammatoires qui orientent la production des IgG4.

Bien que largement considérées inertes immunologiquement, les IgG4 sont impliquées dans des pathologies diverses. En auto-immunité, des pathologies bien caractérisées sont associées à des anticorps IgG4 spécifiques d'antigènes parmi lesquelles nous retrouvons la myasthénie à anti-*muscle-specific kinase* (MuSK), le pemphigus et le purpura thrombotique thrombocytopénique. La pancréatite auto-immune, chef de file de la récente entité clinique « maladie associée aux IgG4 » (MAG4) est un autre exemple. La base mécanistique de l'association des IgG4 à la MAG4 reste encore énigmatique. Cependant, l'association à des maladies sclérosantes peut refléter une production excessive de cytokines anti-inflammatoires déclenchant une prolifération excessive de cellules plasmatiques productrices d'IgG4. L'existence de la sous-classe IgG4, sa régulation positive par des facteurs anti-inflammatoires et ses propres caractéristiques anti-inflammatoires peuvent aider le système immunitaire à atténuer les réactions inflammatoires inappropriées.

La MAG4 est une pathologie inflammatoire fibrosante immuno-médiée capable de provoquer une atteinte multi-organes (Kamisawa *et al.* 2015; Stone 2012). Les organes impliqués partagent des caractères d'anatomopathologie et de sérologie communs (Kamisawa *et al.* 2003) incluant une hypertrophie ou une pseudotumeur inflammatoire des organes concernés, une infiltration lympho-plasmocytaire marquée et enrichie en plasmocytes IgG4-positifs et un degré variable de fibrose. Une élévation sérique des IgG4 polyclonales est communément observée (Carruthers *et al.* 2015). Les données épidémiologiques de cette maladie ne sont pas connues de manière précise, la prévalence restant inconnue. La pathogénèse de la MAG4 n'est pas complètement élucidée. Le diagnostic de la MAG4 repose sur une combinaison de critères cliniques, histopathologiques, biologiques et d'imagerie. Il s'agit bien souvent un diagnostic d'élimination. Des travaux récents ont permis d'établir de nouveaux critères de classification plus précis avec un système de points proposé de concert par le collège américain de rhumatologie (*American College of Rheumatology* ou ACR) et la ligue européenne contre les rhumatismes (*European League Against Rheumatism* ou EULAR) (Wallace *et al.* 2019).

La première partie de ce mémoire est consacrée à un état des connaissances actuelles sur les IgG4 en abordant plus particulièrement leur spécificité structurale, leur implication en pathologie humaine et les méthodes de dosage et de caractérisation au laboratoire d'Immunologie.

Les deux parties suivantes sont dédiées à mon travail de thèse.

Nous avons en premier lieu cherché à appliquer les nouveaux critères de classification définis par le groupe de travail international pour l'ACR et l'EULAR aux patients connus pour une MAG4 au CHU de Bordeaux. Nous avons en second lieu tenté d'évaluer le seuil d'1,35 g/L d'IgG4 que l'on retrouve dans les premiers critères diagnostiques et qui font encore foi en 2019. Cette évaluation est passée par l'analyse des dossiers patients ayant eu un ou plusieurs dosages IgG4 supérieurs à 1,35 g/L et dont la MAG4 n'était pas diagnostiquée.

Ensuite, nous nous sommes interrogés sur les interférences des taux élevés d'IgG4 sur les méthodes de dosage utilisées au laboratoire d'Immunologie et d'Immunogénétique du CHU de Bordeaux. Nous avons également évalué l'impact potentiel des anticorps monoclonaux thérapeutiques de nature IgG4 dans ces méthodes de dosage. Le constat d'une différence parfois significative entre le dosage des IgG totales et la somme des quatre sous-classes d'IgG dosées indépendamment nous a fait réfléchir sur les causes potentielles. Enfin, dans un contexte actuel de rationalisation des prescriptions d'analyses de biologie médicale, nous avons souhaité évaluer la prescription des sous-classes d'IgG au CHU de Bordeaux.

Synthèse bibliographique

1. Structure de l'IgG4

1.1. Structure de base des immunoglobulines

Pour combattre efficacement le large éventail de pathogènes qu'un individu peut rencontrer, les lymphocytes du système immunitaire adaptatif ont évolué pour reconnaître un grand nombre d'antigènes différents. Un antigène est une molécule ou une partie de molécule qui est reconnue spécifiquement par les protéines hautement spécialisées de reconnaissance des lymphocytes B que l'on appelle « immunoglobulines » (Ig). Chaque lymphocyte B différencié en plasmocyte produit des immunoglobulines ayant une seule spécificité. On distingue deux formes d'immunoglobulines : la première, liée à la surface membranaire des cellules B servant de récepteur cellulaire pour un antigène et communément appelée *B-cell receptor* (BCR) ; la seconde, circulante, représente la fraction sécrétée par les cellules B différenciées (plasmablastes et plasmocytes) et est connue sous le nom d'anticorps.

Une molécule d'anticorps a deux fonctions distinctes : lier spécifiquement un antigène et recruter d'autres cellules ou molécules. Ces fonctions de reconnaissance et effectrice sont séparées structurellement puisque l'on distingue deux fragments identiques Fab (*antibody binding Fragment*) capables de fixer l'antigène et un fragment Fc (fragment cristallisable) possédant la fonction effectrice (Figure 1).

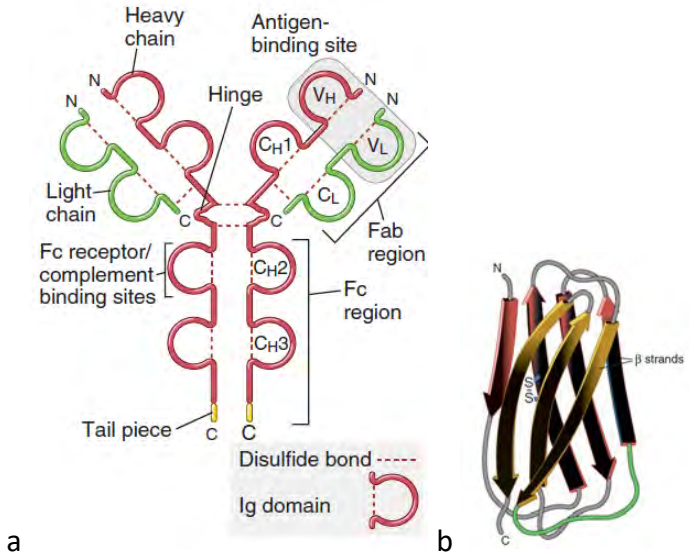


Figure 1 Architecture des immunoglobulines. a – Structure des immunoglobulines ; b – Structure d'un domaine immunoglobuline (Abbas *et al.* 2018). Fc, fragment constant ; Fab, fragment liant l'antigène ; C_H, domaine constant de la chaîne lourde ; C_L, domaine constant de la chaîne légère ; V_H, domaine variable de la chaîne lourde ; V_L, domaine variable de la chaîne légère ; Hinge, région charnière ; N, extrémité N-terminale ; C, extrémité C-terminale ; pointillés, pont disulfure.

L’acronyme Fc désigne historiquement la capacité de cette structure à cristalliser lorsque des immunoglobulines sont digérées par de la papaïne. La région Fab présente une extrémité variable pour permettre la reconnaissance d’un répertoire structural virtuellement illimité, et peut être retrouvée sous le nom de région variable (V). La région Fc, plus stable, est appelée en opposition région constante (C).

Les immunoglobulines sont des molécules symétriques formées de quatre chaînes polypeptidiques homologues 2 à 2 et reliées par des ponts disulfures : deux chaînes lourdes (H pour heavy) et deux chaînes légères (L pour light).

Il existe cinq types de chaînes lourdes, désignées par les lettres grecques μ, δ, γ, α et ε. Elles permettent de définir les cinq isotypes ou classes d’immunoglobulines, appelées IgM, IgD, IgG, IgA et IgE, respectivement. Certaines classes sont divisées en sous classes comme pour les IgG (IgG1 à IgG4) et les IgA (IgA1 et IgA2). Il existe deux types de chaînes légères, appelées κ (kappa) et λ (lambda) qui peuvent se combiner avec n'importe quel type de chaîne lourde. Pour une immunoglobuline donnée, les deux chaînes légères sont toujours identiques. Des ponts disulfures inter-chaînes et liaisons non covalentes permettent de maintenir entre elles les chaînes lourdes et légères mais aussi également les deux chaînes lourdes. Le nombre de ponts disulfures inter-chaînes varie en fonction des molécules d’immunoglobulines.

Les chaînes lourdes et légères sont constituées de domaines définis par des ponts disulfures intracaténaires dont le nombre varie selon le type d’Ig. Chaque chaîne est constituée de plusieurs domaines « immunoglobuline ». Chaque domaine Ig correspond à une unité structurale d’environ 110 acides aminés. Ces domaines possèdent des structures globulaires similaires présentant deux feuillets β antiparallèles reliés par un pont disulfure. Les brins adjacents de chacun des feuillets sont reliés par des petites boucles (Figure 1b). Les chaînes légères comportent deux domaines alors que les chaînes lourdes en possèdent quatre (IgD, IgG, IgA) ou cinq (IgM et IgE). Les domaines amino-terminaux des chaînes lourdes et légères varient considérablement d'un anticorps à l'autre. Ils sont notés respectivement VH (*variable heavy*) et VL (*variable light*). Les autres domaines des chaînes légères et lourdes sont constants et notés CL (*constant light*), ou CH1, CH2, CH3 (*constant heavy* 1, 2 et 3) voire CH4. L'association est telle que les domaines VH et VL sont appariés de même que les domaines CH1 et CL. Les deux domaines CH3 des chaînes lourdes interagissent l'un avec l'autre, alors que la composition en sucres des domaines CH2 empêche une telle interaction. Le fragment Fab est constitué de l’association entre les domaines VH-VL-CH1-CL. Les régions déterminant la complémentarité (CDR) au niveau des domaines VH et VL constituent le site de liaison à l’antigène. Il s’agit du paratope qui est complémentaire de l’épitope de l’antigène. La partie constante des deux chaînes lourdes associées comportant les domaines CH2-CH3 (voire CH4) constitue le Fc.

Entre les domaines CH1 et CH2 se trouve la région flexible dite « *hinge* », de jonction ou charnière, qui permet de connecter le Fab au Fc. Cette région au niveau de laquelle les bras de la structure d'anticorps sont en forme de Y présente un certain degré de flexibilité.

Les IgA et les IgM présentent une chaîne de jonction J qui assure la cohésion de polymères dimériques ou pentamériques respectivement.

1.2. Structure des IgG et de l'IgG4

Chez la plupart des mammifères, les cinq classes d'immunoglobulines diffèrent par leur composition en acides aminés et en sucres et par conséquent par leur masse moléculaire et leur charge. A ces différences entre les classes s'ajoute l'hétérogénéité des sous-classes à l'intérieur de chaque classe.

L'IgG représente la classe prédominante d'anticorps circulants avec une concentration sérique entre 7 et 15 g/L chez un sujet sain (soit 75% du taux d'Ig totales), faisant d'elle une des plus abondantes glycoprotéines circulantes. Elle se présente sous une forme monomérique avec un poids moléculaire de 146 à 170 kDa.

Chez l'Homme, l'IgG existe sous 4 isoformes -IgG1, IgG2, IgG3, IgG4-, nommées par ordre décroissant d'abondance dans la circulation générale d'un sujet sain (Duan et Mukherjee 2016). Les caractéristiques de chaque sous classe sont présentées dans le Tableau I.

Tableau I. Propriétés des sous-classes d'IgG adapté d'après Vidarsson, *et al.* 2014. FcγR récepteur au fragment Fc des IgG.

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Caractéristiques générales et fonctionnelles				
Poids moléculaire (kDa)	146	146	170	146
Nombre d'acides aminés de la région charnière	15	12	62	12
Abondance relative	61	31	4	4
Normes (g/L)	4,559-8,926	1,990-5,266	0,168-0,998	0,135-0,737
Demi-vie (jours)	21	21	7	21
Transfert placentaire	++++	++	+++	+++
Reconnaissance d'antigènes protéiques	++	+/-	++	++ (après exposition répétée)
Reconnaissance d'antigènes polysaccharidiques	+	+++	+/-	+/-
Implication dans l'allergie	+	-	-	++
Activation du complément par liaison au C1q	++	+	+++	-
Affinités aux récepteurs Fc				
FcγRI	+++	-	++++	++
FcγRIIa	+++	+	++++	++
FcγRIIb	+	-	++	++
FcγRIIc	+	-	++++	++
FcγRIIIa	+++	+	++++	+
FcγRIIIb	+++	-	++++	-
FcγRn	+++	+++	+++	+++

L'IgG4 représente moins de 5% des IgG totales (Aalberse *et al.* 2009). Les valeurs normales de sous-classes en fonction de l'âge ne sont pas établies par un consensus international. L'absence de standards internationaux et l'hétérogénéité des techniques d'analyse expliquent en partie les difficultés à établir les intervalles de référence de la population.

Les 4 sous-classes d'IgG présentent une structure globale similaire. Les chaînes lourdes (γ1, γ2, γ3 ou γ4) sont composées d'un domaine variable (VH) à la partie N-terminale, suivi de trois domaines constants (CH1, CH2, CH3). Les chaînes légères (κ ou λ) présentent un domaine variable (VL) à la partie N-terminale et un domaine constant (CL).

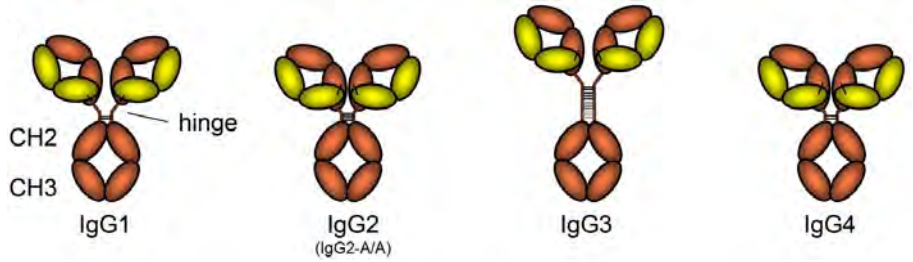


Figure 2. Structure des sous-classes d'IgG (Vidarsson *et al.* 2014). C_H, domaine constant de la chaîne lourde ; Hinge, région charnière ; en marron, chaînes lourdes ; en vert, chaînes légères ; traits noirs, pont disulfure. IgG2-A/A = IgG2 représentée sous sa forme classique avec 4 ponts disulfures.

La région *hinge* varie entre les quatre sous-classes d'IgG, de par sa composition de séquence d'acides aminés et de nombre de ponts disulfures. L'IgG4 comporte 2 ponts disulfures inter-chaînes au niveau de cette région de jonction, semblables à ceux de l'IgG1. Les IgG1 présentent un motif rigide CPPC (cystéine-proline-proline-cystéine) aux positions 226 à 229. Les IgG4 présentent une sérine en position 228 (S228) qui, sous certaines conditions oxydoréductrices, leur permet d'établir un pont disulfure intra-chaîne (Angal *et al.* 1993). Ce motif exclusivement retrouvé chez les IgG4 confère une flexibilité à la molécule (Liu et May 2012; van der Neut Kolfschoten *et al.* 2007).

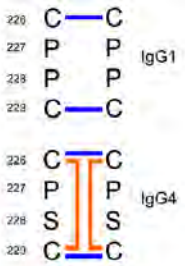


Figure 3 Comparaison des régions charnière des IgG1 et IgG4. Acides aminés : C pour cystéine, P pour proline et S pour sérine ; en bleu, ponts disulfures inter-chaînes ; en orange, pont disulfure intra-chaîne ; numéro, position de l'acide aminé sur la séquence protéique de l'immunoglobuline.

Au niveau du domaine CH3, les IgG4 présentent une arginine en position 409 (R409) alors que les autres IgG possèdent un résidu lysine (K409). Cette variation affaiblit les liaisons non covalentes entre les deux domaines CH3 des chaînes lourdes de IgG4 (Labrijn *et al.* 2011).

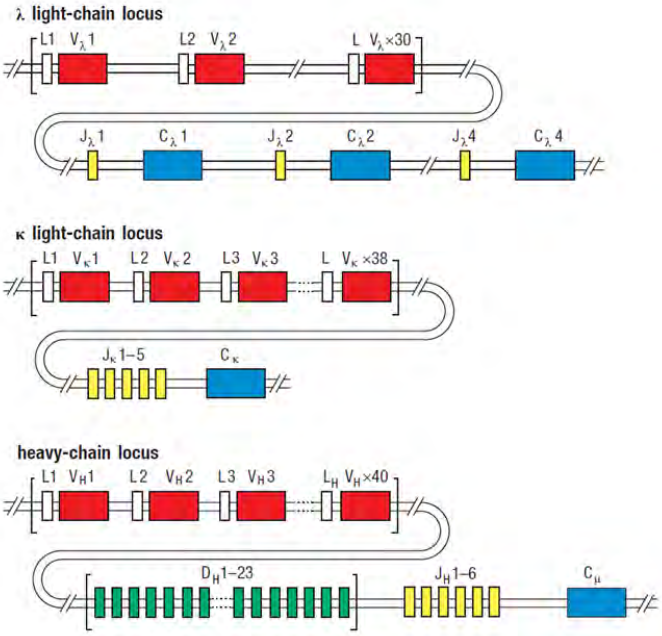


Figure 4. Organisation des gènes des immunoglobulines dans le génome humain (Murphy et Weaver 2016). En fonction des individus, le locus pour la chaîne légère λ (chromosome 22) a entre 29 et 33 segments géniques V_λ fonctionnels et 3 ou 4 paires de segments géniques fonctionnels J_λ et C_λ. Le locus κ (chromosome 2) est organisé de la même façon, avec environ 38 segments géniques fonctionnels V_κ mais accompagné d'un groupement de 5 segments géniques J_κ et 1 seul gène C_κ. Cependant, près de 50% des individus présentent une duplication du bloc V_κ (non présenté). Le locus de la chaîne lourde (chromosome 14) présente environ 40 segments géniques fonctionnels V_H, 23 segments géniques de diversité D_H, 6 segments géniques de jonction J_H. Il présente également un grand groupe de gènes C_H (*cf*. Figure 5). Pour des raisons de simplicité, tous les segments géniques V sont illustrés selon la même orientation chromosomique, seulement le premier gène des domaines constants des immunoglobulines est représenté (correspondant à l'IgM, C_μ), et tous les pseudogènes ont été omis. Cette illustration n'est pas à l'échelle, la longueur totale du locus de la chaîne lourde étant supérieur à 2 millions de bases.

Le motifs S228 et R409 permettent ainsi une structure flexible qui favorise la dissociation de l'IgG4 en deux demi-molécules (van der Neut Kolfschoten *et al.* 2007). Ils confèrent à l'IgG4 une aptitude unique communément appelée « *Fab-arm exchange* » (Aalberse *et al.* 2009) détaillée dans le paragraphe 3.6. Cette aptitude contribue aux caractéristiques fonctionnelles des IgG4.

2. Support génétique

2.1. Organisation des gènes des immunoglobulines

Les gènes des chaînes lourdes, IGH (*immunoglobulin heavy*), sont situés sur le chromosome 14, bras long position 32 (14q32). Il existe 9 gènes fonctionnels (IGHM, IGHD, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHA1, IGHA2 et IGHE) et correspondent respectivement aux 9 isotypes de chaînes lourdes μ, δ, γ1, γ2, α1, γ3, γ4, ε et α2 (*cf.* Figure 5).

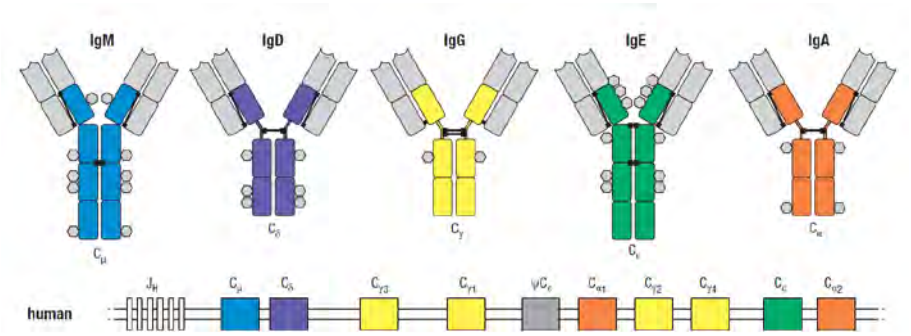


Figure 5. Groupe de gènes de la région c-terminale des chaînes lourdes des immunoglobulines (Murphy et Weaver 2016). Les domaines constants des chaînes lourdes des immunoglobulines sont représentées par les rectangle de couleur. Les hexagones représentent des groupes glucidiques. J_H correspond aux gènes codant pour les segments de jonction de la chaîne lourde, C correspond aux gènes codant pour les domaines constants de la chaîne lourde, ψ correspond à un pseudogène.

En amont de ces gènes codant pour la partie constante des chaînes lourdes se trouvent d'autres groupements permettant de former un fragment variable complet. Pour les chaînes lourdes, on trouve trois groupes de gènes VH, DH et JH codant pour les segments variables (VH), les segments de diversité (DH) et les segments de jonctions (JH) (Figure 4).

Concernant les chaînes légères, les gènes sont situés sur deux chromosomes différents. Sur le chromosome 2, en position 2p11, on retrouve le groupe de gènes IGKV suivi du groupe IGKJ formant le domaine variable et se terminant par le gène IGKC qui forme le fragment constant. Le tout aboutit à la chaîne légère kappa (κ). Sur le chromosome 22, en position 2q11, on retrouve un groupe de gènes IGLV suivi de 4 ou 5 associations de gènes fonctionnels IGLJ et IGLC pour former la chaîne légère lambda (λ).

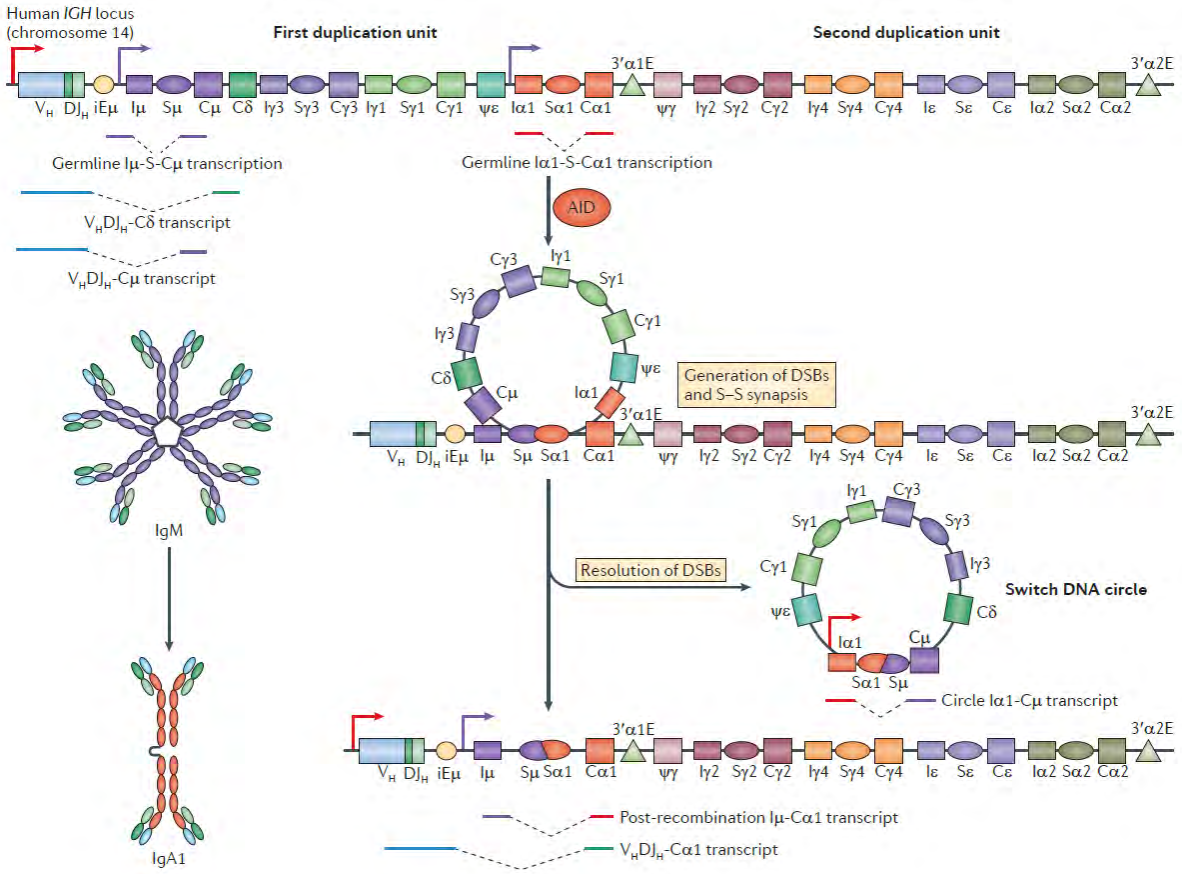


Figure 7 La recombinaison de l'ADN lors de la commutation de classe d'immunoglobuline implique une délétion d'ADN (Xu *et al.* 2012)**.** La région variable de la chaîne lourde des immunoglobulines est assemblée à partir de segments variable (VH), diversité (DH) et jonction (JH) par recombinaison V (D) J. Le processus de réarrangement implique le clivage des séquences de signal de recombinaison, qui encadrent les segments des gènes réarrangés. La recombinaison est réalisée par le complexe RAG1–RAG2 (*recombination-activating gene*). La jonction des gènes nécessite les protéines NHEJ, Ku70, Ku80, ARTEMIS, XRCC4, l'ADN ligase IV et la sous-unité catalytique de la protéine kinase dépendante de l'ADN (DNA-PKcs). La transcription à travers le locus est pilotée par un promoteur en amont du segment VDJ réarrangé (flèche violette), ce qui facilite la synthèse d'une chaîne lourde en μ situé en aval et la formation d'une molécule d'IgM. Celle-ci est exprimée à la surface cellulaire d'un lymphocyte B. Par la suite, des isotypes secondaires sont produits par commutation de classe, un processus qui échange la région constante de la chaîne lourde (CH). La recombinaison de l'ADN lors de la commutation de classe permet l'échange d'un gène codant pour le fragment constant de la chaîne lourde (CH) avec l'un des gènes CH en aval (le schéma illustre la commutation entre une IgM et une IgA1). Cette délétion-recombinaison nécessite la cytidine désaminase (*activation-induced cytidine deaminase* ou AID) et implique la génération de cassures d'ADN au niveau des régions de commutation (S, *switch*), qui précèdent les gènes de la région constante, suivies de la réparation de l'ADN. Cela conduit à un réarrangement du locus CH et à la suppression de la séquence intermédiaire sous la forme d'un cercle épisomal. Les cytokines stimulent la transcription (flèches rouges) du gène CH et déterminent l'isotype d'immunoglobuline vers lequel la cellule B se connectera. Les régions variables réarrangées des chaînes lourde et légère subissent également un taux élevé de mutation ponctuelle par le processus d'hypermutation somatique (non représenté). Ψ pseudogène, 3'αE 3'α enhancer, Ieμ IGH intronic enhancer, IH IGH intervening region

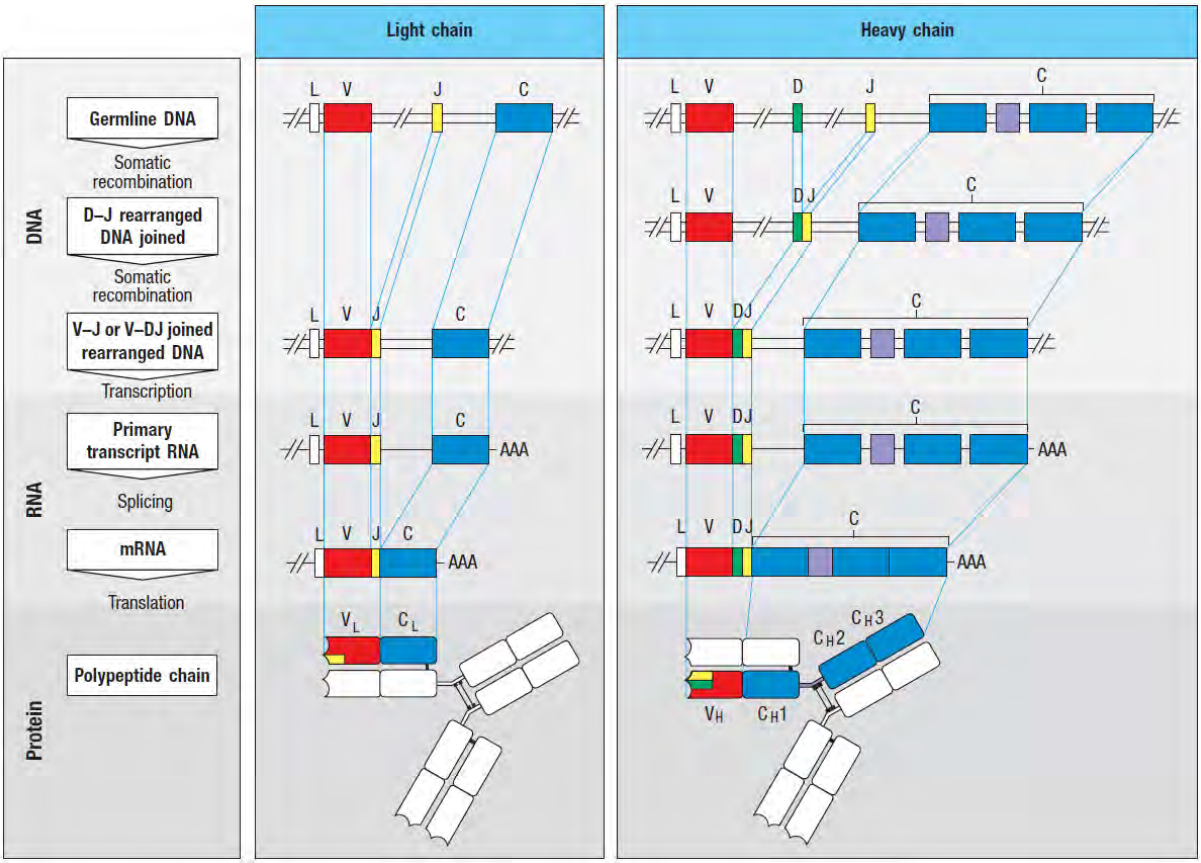


Figure 6 Construction des gènes des domaines variables à partir des blocs de gènes (Murphy et Weaver 2016)**.** Les gènes des domaines variables des chaînes légères sont construits à partir de deux segments. Un segment génique variable (V) et un segment de jonction J s'associent pour former un exon complet correspondant au domaine V de la chaîne légère. Les immunoglobulines sont des protéines extracellulaires, le segment génique variable (V) est précédé par un exon codant pour une protéine guide ou *leader* (L) qui oriente la protéine vers les voies de sécrétion cellulaire et est ensuite clivée. Le domaine constant de la chaîne légère est codé par un exon séparé et est assemblé à l'exon du domaine variable lors de l'épissage de l'ARN de la chaîne légère. Cette étape permet d'enlever les introns entre L et V et entre J et C. les domaines variables des chaînes lourdes sont construits à partir de trois segments géniques. Tout d'abord, un segment de diversité D et un segment de jonction J s'assemblent. Ensuite un segment V s'ajoute à la séquence DJ, formant un exon complet du domaine variable de la chaîne lourde. Le gène des domaines constants de la chaîne lourde est codé par plusieurs exons. L'épissage du transcrit ARN de la chaîne lourde permet de relier les exons L et C à la séquence V. Pour les deux types de chaînes, la séquence L est supprimée après la traduction et les ponts disulfures reliant les chaînes polypeptidiques sont formés. La région charnière apparaît en violet.

2.2. Du génome à l'IgG4

Les lymphocytes B expriment initialement les isotypes μ et δ par épissage de l'ARN messager qui conduit à l'expression d'IgM et d'IgD. Pour obtenir une IgG4, des réarrangements d'ADN connus sous le nom de commutation de classe se produisent après activation du lymphocyte B par un antigène au cours d'une réponse immunitaire. La commutation isotypique (ou commutation de classe, ou « *class switching* ») est un processus qui, lors de la maturation d'un lymphocyte B, permet de changer l'isotype (classe) des immunoglobulines produites. Ce changement de la chaîne lourde est la conséquence du remplacement du locus Cμ par un autre locus (Cγ4 pour l'IgG4). Ce mécanisme correspond à un réarrangement irréversible de l'ADN, et ceci par excision des séquences d'ADN situées entre le gène J et le gène codant pour la chaîne lourde $C_{\gamma 4}$. Ceci est possible par la présence de séquences caractéristiques appelées régions S (pour régions Switch) en amont de chaque gène codant pour la chaîne lourde, entraînant le rapprochement des séquences codantes, puis l'excision de toutes les séquences d'ADN situées entre ces deux régions S (Figure 7).

2.1. Origine et place dans l'évolution

Le groupe de gènes codant pour les chaînes lourdes est organisé en deux régions gamma-gamma-epsilon-alpha (γ3, γ1, ε, α1 et γ2, γ4, ε, α2) (Figure 4). Cette configuration, qui comprend l'IgG4 dans la deuxième région, n'est observée que chez l'Homme. Ceci serait dû à une duplication au cours de l'évolution (Flanagan et Rabbitts 1982).

La position relativement terminale de la portion de gène IGHG4 (Figure 4) pourrait être une des raisons expliquant pourquoi les IgG4 sont retrouvées dans les expositions chroniques aux antigènes (Aalberse *et al.* 2009). Sa proximité avec le gène codant pour l'IgE pourrait également être une des raisons pour laquelle cette immunoglobuline plutôt que les autres est augmentée dans les situations d'allergie. Mais les explications restent à démontrer.

Pour les IgG4, il n'y a pas d'allotype connu mais leur polymorphisme réside dans l'existence d'isoallotypes (de Lange 1989). C'est-à-dire que les épitopes sont allotypes au sein d'une sous-classe d'IgG mais aussi isotypes dans une ou plusieurs autres sous-classes d'IgG. L'épitope nG4m(a) correspondant à la leucine en position 309 (au niveau du CH2) est aussi exprimée sur les régions constantes des IgG1 et IgG3. L'épitope nG4m(b) correspondant à la valine à cette même position 309 (au niveau du CH2) est exprimée sur la région constante des IgG2 (Jefferis et Lefranc 2009).

Les caractéristiques présentées *infra*, à savoir sa production suite à une exposition chronique à un antigène (exemple du venin d'abeille) ou encore son affinité accrue au récepteur inhibiteur FcRIIb, peuvent représenter une forme d'évolution adaptative ayant

FcγRIA (CD64)	α 70 kDa γ 9 kDa ITAM	10^7–10^9 M^{-1} to IgG1≥3>4>>2	Macrophage, monocyte, neutrophil, eosinophil, DC
FcγRIIA (CD32)	~40 kDa ITAM-like	<10^7 M^{-1} to IgG3≥1,2>>4	Macrophage, neutrophil, eosinophil, platelet, DC, LC
FcγRIIB (CD32)	40–60 kDa ITIM	<10^7 M^{-1} to IgG3≥1>4>2	B cell, mast cell, basophil, macrophage, eosinophil, neutrophil, DC, LC
FcγRIIIA (CD16)	α human: 50–80 kDa mouse: 40–60 kDa γ (or ζ)	2 × 10^7 M^{-1} to IgG1,3>>2,4	Macrophage, monocyte, NK cell, mast cell, eosinophil, DC, LC, neutrophil (mouse)
FcγRIIIB (CD16)	~50 kDa GPI link	<10^7 M^{-1} to IgG1,3>>2,4	Neutrophil, eosinophil
FcRn	α 50 kDa β_2m 12 kDa	2 × 10^8 M^{-1} to IgG	Placenta, small intestine, monocyte, DC

Figure 8 Vue d'ensemble de la structure et des profils d'expression cellulaire des récepteurs Fc des IgG (Takai 2002). La troisième colonne correspond à l'affinité des IgG pour le récepteur. β2m, β2-microglobuline ; DC, cellule dendritique, FcRn, récepteur Fc néonatal ; GPI, glycosylphosphatidylinositol ; Ig, immunoglobuline ; LC, cellule de Langerhans, NK, *natural killer*.

pour but d'éviter les réponses immunitaires excessives face à des antigènes « stériles » ne constituant pas de menace infectieuse (Vidarsson *et al.* 2014).

3. Caractéristiques fonctionnelles générales des IgG4

La région Fc des IgG a trois fonctions effectrices principales : la liaison au récepteur Fc, l'activation du complément et la régulation de sa diffusion. L'IgG4 ne répond pas totalement à des principes généraux et elle présente d'autres caractéristiques fonctionnelles uniques qui la différencient des autres IgG qui sont les interactions Fc-Fc et le Fab-Arm Exchange.

3.1. Caractéristiques de liaison de l'IgG4 aux récepteurs Fcγ

La fixation d'une immunoglobuline sur un récepteur Fc déclenche des voies de signalisation pouvant aboutir à différentes fonctions selon le type de récepteur. Par exemple, les récepteurs Fcγ exprimés à la surface des macrophages et des polynucléaires neutrophiles fixent la région Fc des IgG1 et des IgG3, ce qui induit la phagocytose des antigènes liés à la partie Fab de ces anticorps.

Les récepteurs humains Fcγ (FcγRs) sont exprimés par les différentes cellules immunitaires (Bruhns 2012) et peuvent être séparés en deux groupes en fonction de leur capacité à lier des IgG monomériques (récepteurs de haute affinité) ou exclusivement des complexes immuns (récepteurs de basse affinité) (Su *et al.* 2002). On distingue trois familles de FcγRs. FcγRI (CD64) est le seul récepteur de haute affinité. Les deux autres familles regroupent les récepteurs de basse affinité, FcγRII (CD32) et FcγRIII (CD16). La famille FcγRII comprend FcγRIIa, FcγRIIb et FcγRIIc tandis que la famille FcγRIII comprend FcγRIIIa et FcγRIIIb (Bruhns 2012). Tous les récepteurs ont des propriétés d'activation cellulaire, exceptés FcγRIIb, qui est inhibiteur, et FcγRIIIb dont les propriétés ne sont pas complètement élucidées. L'affinité des IgG4 pour FcγRI est de même ordre de grandeur que les IgG1 et IgG3 mais elle est beaucoup plus faible pour les autres récepteurs activateurs. Leur affinité pour le FcγRIIb est plus importante que les autres sous-classes d'IgG. La liaison au FcγRIIIb n'a quant à elle pas été détectée (Bruhns *et al.* 2009) (*cf.* Tableau I).

La faible affinité des IgG4 pour les récepteurs activateurs (hormis FcγRI) et la forte affinité pour le récepteur inhibiteur, résultent en une altération du recrutement des cellules immunitaires effectrices, comparativement aux IgG1 (Aalberse *et al.* 2009).

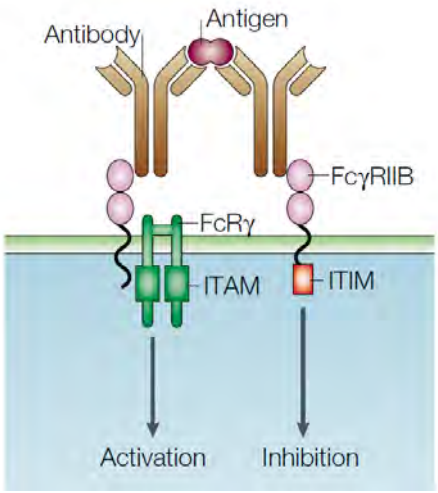


Figure 9 Activation ou Inhibition de la signalisation cellulaire (Takai 2002). Régulation positive et négative de la signalisation cellulaire. Les récepteurs Fc (FcR) sont exprimés par de nombreuses cellules du système immunitaire et jouent un rôle central dans le contrôle des réponses immunitaires après interaction avec les complexes antigène-anticorps. La cascade d'activation via le FcR commun à la chaîne gamma (FcRγ)-associé aux FcRs résulte en une activation cellulaire, qui conduit à la phagocytose, la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), la génération de radicaux oxygène (anion superoxyde), la production et la libération de cytokines et de médiateurs pro-inflammatoires. *A contrario*, FcγRIIB comprend un motif d'inhibition des récepteurs immuns basé sur la tyrosine (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM), et agit comme inhibiteur de la cascade d'activation induite par le motif d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine (tyrosine-based activation motif, ITAM).

3.2. Défaut d'activation du complément par l'IgG4

Dans les complexes immuns antigène-anticorps, la région Fc des IgG fixe la protéine C1q du complément et déclenche la cascade de la voie classique du complément, permettant de recruter et activer les cellules douées de phagocytose dans le but de détruire la cible antigénique. L'activation du complément est amorcée par la fixation et l'activation subséquente du C1q, conduisant au dépôt de C3b à des fins d'opsonisation de la cible et à la formation de complexe d'attaque membranaire (C5b-C9) qui perturbe la membrane cible bilipidique (Sarma et Ward 2011). Comparativement aux autres sous-classes d'IgG, l'IgG4 n'active pas le complément en raison d'un défaut de fixation du C1q (Bindon *et al.* 1988; Schumaker *et al.* 1976; Tao, Smith, et Morrison 1993).

Les acides aminés présents dans le domaine CH2 seraient critiques pour la fixation du C1q, essentiellement L235, D270, K322, P329, and P331 (Tao *et al.* 1993). Identifiée dans la portion des acides aminés 292-340 (Brekke *et al.* 1994; Tao *et al.* 1993), la mutation P331S est la mieux décrite actuellement et serait responsable de l'absence de cette activité pour l'IgG4 (Abe *et al.* 2010; Lu *et al.* 2007). En effet, la mutation de la P331 en S331 chez les IgG1

et IgG3 réduit la liaison au C1q, et la mutation de la S331 en P331 chez les IgG4 permet de restaurer partiellement la liaison au C1q (Tao *et al.* 1993; Xu, Oomen, et Klein 1994).

L'étude des structures cristallines de la portion Fc des IgG4 humaines a également permis de mettre en évidence une conformation unique de la boucle FG (boucle située entre le brin F et le brin G) du domaine CH2 qui perturbe les sites de liaison au C1q et aux FcγR (Figure 10) (Davies *et al.* 2014). Cette conformation de la boucle FG génère ensuite un encombrement stérique qui affecte le positionnement de la boucle BC comprenant D270 et P271, eux aussi critiques pour la liaison au C1q (Davies *et al.* 2014).

Ces deux caractéristiques seraient responsables de la faible aptitude des IgG4 à fixer le complément (et les FcRs activateurs), donc de la capacité à déclencher la voie classique du complément.

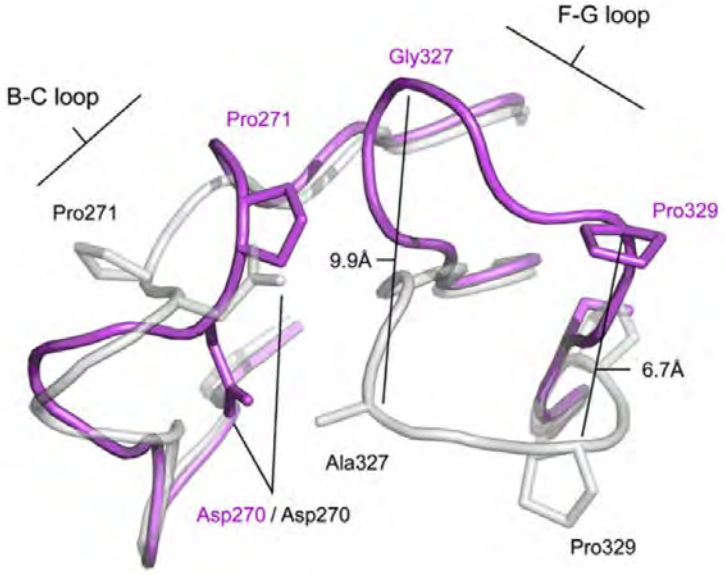


Figure 10 Différences conformationnelles au niveau de la boucle FG du CH2 (Davies *et al.* 2014). La superposition de la région Fc d'une IgG4 recombinante (en violet) avec la région Fc d'une IgG1 (en gris) révèle une conformation unique de la boucle FG de l'IgG4. La distance entre la proline en position 329 des deux structures est indiquée en Angström, celle entre l'alanine de l'IgG1 et la glycine de l'IgG4 en position 327 l'est également ; montrant l'étendue des différences. Les différences de position des acides aminés acide aspartique en position 270 et proline en position 271 au niveau de la boucle BC sont également représentées.

3.3. Régulation de la diffusion de l'IgG4

La région Fc permet de porter les immunoglobulines au niveau de sites qu'elles ne pourraient pas atteindre autrement que par un transport actif. Pour les IgG il s'agit du récepteur Fc néonatal (FcRn) qui permet le transfert des IgG maternelles vers la circulation sanguine fœtale. Ce FcRn est également exprimé à la surface des podocytes des glomérules rénaux afin de réabsorber les IgG qui ont été filtrées du sang et qui s'accumulent dans la membrane basale glomérulaire. L'affinité des IgG4 au FcRn est semblable aux autres IgG (Bruhns *et al.* 2009) et semble donc diffuser tout aussi bien.

3.4. Interactions Fc-Fc

Contrairement aux autres IgG, l'IgG4 peut interagir avec les autres Ig et favoriser leur agrégation.

Cette interaction a largement été étudiée en lien avec le Facteur Rhumatoïde (FR) (Zack *et al.* 1995). Le fragment Fab du FR reconnaît les domaines CH2-CH3 des IgG (Sutton *et al.* 2000). L'IgG4 a montré posséder une affinité intrinsèque pour les IgG fixées en phase solide (Kawa *et al.* 2008; Rispens *et al.* 2009). L'IgG4 se lie aux autres IgG *via* son fragment Fc sur les domaines CH2-CH3. L'étude des structures cristallines a permis d'identifier l'interface où cette interaction se produit (Davies *et al.* 2014). Cette interface (Figure 11) implique les domaines CH2-CH3 des deux Ig, liées par une double rotation avec une part plus importante supportée par le CH3. Nous retrouvons des liaisons de Van der Waals prédominantes et une liaison non covalente reliant l'arginine R255 et l'acide glutamique E382 entre les deux domaines. Le tout est dupliqué en raison de la double nature de l'interaction (Davies *et al.* 2014).

La pertinence de cette interaction n'est pas complètement élucidée mais semble avoir lieu dans la polyarthrite rhumatoïde et la MAG4 (montrée dans les formes de pancréatite auto-immune et glomérulonéphrite membranaire) (Kawa *et al.* 2008; Zack *et al.* 1995).

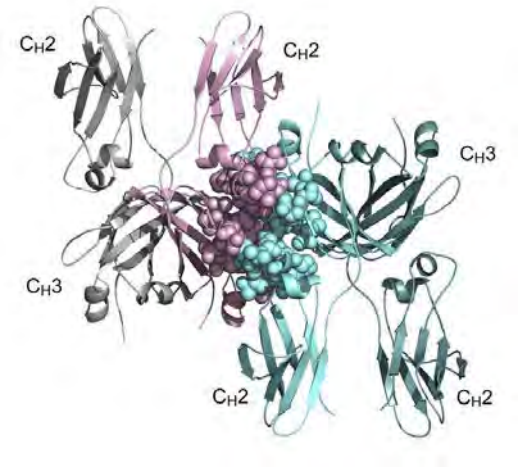


Figure 11 Interface Fc–Fc identifiée par cristallographie (Davies *et al.* 2014). Orientation de deux fragments Fc de molécules d'IgG différentes. Les deux molécules sont reliées l'une à l'autre par une double rotation. Les acides aminés en interface d'un fragment Fc (rose) et d'un autre fragment Fc (bleu cyan), sont représentés sous forme de sphère.

Cette capacité d'interaction et d'agrégation sous-tend de potentielles interférences analytiques dans les immunoanalyses et dans le dosage sérique des IgG4. L'agrégation des immunoglobulines est un challenge industriel, les IgG4 sont en effet utilisées en thérapeutiques sous forme d'anticorps monoclonaux (*cf. infra*) (Chennamsetty *et al.* 2009; Ishikawa *et al.* 2010; Jiang *et al.* 2011; Shire, Shahrokh, et Liu 2004).

3.5. Fab-Arm Exchange

In vivo, des molécules d'IgG4 se recombinent aléatoirement couplant ainsi les spécificités de reconnaissance antigénique de deux IgG4, et aboutissant à une molécule asymétrique bispécifique (van der Neut Kolfschoten *et al.* 2007; van der Zee, van Swieten, et Aalberse 1986). L'IgG4 serait ainsi une Ig hétérobivalente plutôt que monovalente. Cette spécificité est contrôlée par les conditions d'oxydoréduction ou redox (Rispens *et al.* 2011, 2014). Comme vu dans le paragraphe 1.1, c'est la présence caractéristique des résidus S228 et R409 (Figure 12) qui rend possible cette recombinaison appelée le *Fab-Arm Exchange* (FAE) (Rispens *et al.* 2011).

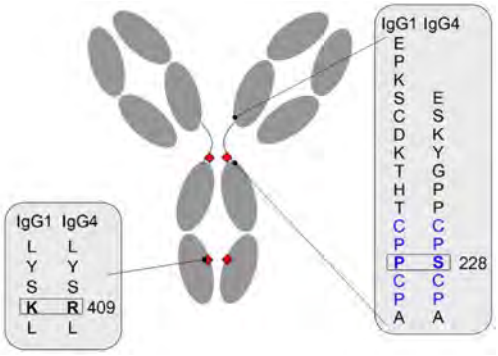


Figure 12 Comparaison des acides aminés des IgG1 et IgG4 impliqués dans le *Fab-Arm Exchange* (Rispens *et al.* 2013)**.** Au niveau de la région charnière, la sérine en position 228 de l'IgG4 est responsable de la capacité à former un isomère non covalent avec un pont disulfure intra-chaîne. Ce pont intra-chaîne facilite le phénomène d'échange. L'arginine en position 409 affaiblit la liaison non covalente entre les 2 domaines CH3, favorisant ainsi la dissociation.

La découverte du rôle du résidu S228 a été réalisée par l'équipe de King en 1993. Ces auteurs ont montré que la substitution du résidu sérine par une proline abolissait la formation de demi-molécules en électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE) (King *et al.* 1992).

Ces travaux ont été complétés par ceux d'Aalberse et Schuurman qui ont produit des IgG4 et des IgG 1 recombinantes monoclonales spécifiques de l'allergène d'acarien domestique Der p2 (Schuurman *et al.* 1997). Lors des tests de réticulation, les IgG4 se comportaient comme les IgG1 bivalentes (Aalberse et Schuurman 2002; Schuurman *et al.* 1999). Dans des conditions dénaturantes, des demi-molécules d'IgG4 bivalentes étaient présentes en plus grande quantité. L'existence d'une interaction non covalente entre les chaînes lourdes permettant des échanges tout en étant suffisamment forte pour maintenir les deux chaînes ensembles a alors été considérée (Schuurman *et al.* 1999). Substituer la proline en sérine dans la région charnière des IgG1 n'était pas suffisant pour l'acquisition de l'aptitude d'échange, même en présence de glutathion réduit (Aalberse *et al.* 2009). Cette modification n'est donc pas suffisante pour assurer le FAE. Le domaine CH3 était également critique.

Ce n'est que plus tard que des études ont démontré le rôle de l'arginine en position 409 dans le CH3. Le remplacement du domaine CH3 dans IgG1 par l'équivalent en IgG4 permet à l'IgG1 mutée d'échanger des demi-molécules. (Labrijn *et al.* 2011; Rispens *et al.* 2014). Un variant polymorphique a été décrit, correspondant à une substitution R409K (lysine) (Brusco *et al.* 1998). Cette forme ne permet pas le *Fab-Arm Exchange* et l'IgG4 ainsi formée se comporte comme une IgG classique. La fréquence allélique de cette substitution semble faible en Europe de l'Ouest : la possibilité d'être homozygote resterait rare. D'après Brusco *et al.*, chez les 100 patients non apparentés testés, 95 étaient homozygotes IGHG4*R409 et 5 étaient hétérozygotes IGHG4*R409/IGHG4*K409). Cette substitution est aujourd'hui mise à profit par l'industrie pharmaceutique pour éviter les FAE.

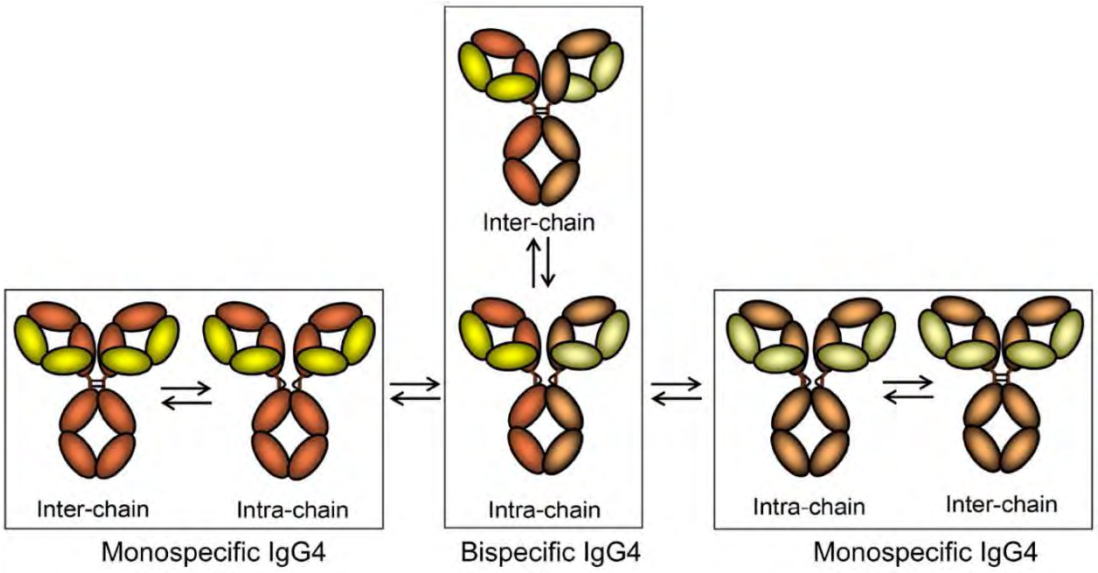


Figure 13. Isomères d'IgG4 résultant du Fab-Arm Exchange (Vidarsson *et al.* 2014). Aux extrémités droite et gauche, deux clones IgG4 différents retrouvés dans la circulation générale juste après leur sécrétion par les plasmocytes. On distingue deux ponts disulfures inter-chaîne. Cet état est en équilibre avec la forme réduite de ces ponts disulfures, qui deviennent intra-chaîne et ne formant plus de liaisons covalentes entre les molécules symétriques. La forme réduite peut redevenir oxydée et donc covalente ou bien permettre l'échange de chaîne lourde au cours d'un processus stochastique avec une IgG4 voisine. L'échange aboutit à une IgG4 asymétrique et bispécifique (milieu, forme du bas), qui peut à son tour être covalente (milieu, forme du haut). Les échanges sont encore possibles, de façon illimitée si la forme est réduite. Aussi, la quasi-totalité des IgG4 retrouvées chez l'Homme sont des molécules monovalentes bispécifiques. En marron, chaînes lourdes ; en vert, chaînes légères ; traits noirs, ponts disulfures.

La bispécificité de l'IgG4 générée a été confirmée chez des patients recevant deux immunothérapies pour des allergènes d'acariens domestiques et de chat non croisant (Schuurman *et al.* 1999). Les IgG4 sériques de ces patients pouvaient réticuler les deux allergènes avec une seule molécule d'IgG4 (Schuurman *et al.* 1999). Un mélange *in vitro* de deux IgG4 recombinantes ne donnait pas d'IgG4 bispécifique, à moins d'être en présence de glutathion réduit.

Le FAE induit *in vitro* se produit très rapidement, en moins d'une heure (Rispens *et al.* 2014) mais pourrait prendre plusieurs heures voire jours *in vivo*. La demi-vie métabolique de l'IgG4 est de 21 jours (Bonilla 2008). L'anticorps thérapeutique monoclonal natalizumab

participe aux échanges de chaînes lourdes (Labrijn *et al.* 2009) : l'injection de natalizumab à des rats a permis de montrer une demi-vie d'échange FAE de moins de six heures (Shapiro *et al.* 2011). Ces données ainsi que la cinétique de premier ordre suggèrent que 99% des IgG4 circulantes sont bispécifiques (Koneczny *et al.* 2017).

La chaîne légère κ est plus représentée chez les IgG4 avec un ratio κ:λ autour de 3 (Young *et al.* 2014). Après échange, une IgG4 peut avoir simultanément une chaîne légère de type κ et une chaîne légère de type λ. Avec un tel ratio, la probabilité qu'une chaîne lourde associée à une chaîne légère κ soit échangée avec une autre chaîne lourde elle-même associée à une chaîne légère κ est plus grande. Les échanges sont supposés aléatoires. En partant de l'hypothèse que le taux d'échange est de 100%, le calcul des probabilités de recombinaisons en utilisant le Carré de Punnett, on obtient la répartition κ/κ ; κ/λ ; λ/λ suivante : 9 ; 6 ; 1 (Koneczny 2018). Ce qui signifierait que 37,5% des IgG4 sont bispécifiques κ/λ. Ce résultat est proche des valeurs obtenues dans une étude retrouvant les proportions médianes suivantes : 58% ; 30% ; 12% (Young *et al.* 2014).

Aussi, une molécule d'IgG4 est synthétisée de façon normale, symétrique et homo-bivalente. Ce n'est que dans la circulation générale, au décours de croisements avec d'autres IgG4 dans un environnement redox particulier, qu'elle peut devenir hétérobivalente. Bien que ces anticorps soient hétérobivalents, ils se comporteront comme des anticorps monovalents dans la plupart des situations (Aalberse *et al.* 2009). Il est peu probable que l'interaction entre IgG4 et les récepteurs gamma Fc ou C1q soit différente si l'anticorps est homo-bivalent ou hétéro-bivalent. Le principal effet de cet échange serait la génération d'IgG4 monovalente, non réticulantes et donc anti-inflammatoires (Aalberse *et al.* 2009) mais il ne s'agit que d'une hypothèse. Les échanges observés avec des anticorps monoclonaux thérapeutiques de nature IgG4 n'impactent pas leur fonction de blocage, comme démontré pour le natalizumab (Labrijn *et al.* 2009).

4. Production physiologique des IgG4 : polarisation de la voie Th2

La répartition en sous-classes d'IgG lors des réponses immunitaires spécifiques varie avec la structure de l'antigène (nature du transporteur, nombre et nature d'épitopes, propriétés physicochimiques), sa concentration et sa voie d'entrée. Contrairement aux antigènes indépendants des lymphocytes T, les antigènes dépendants des lymphocytes T requièrent une interaction avec les lymphocytes T *helper* qui a pour but de stimuler les lymphocytes B à produire des anticorps. Aussi, certains antigènes augmentent sélectivement une ou plusieurs sous-classes d'IgG. Par exemple la toxine tétanique de *Clostridium tetani* induit des IgG des quatre sous-classes mais ce sont les IgG1 et IgG3 qui prédominent très largement. Les antigènes de nature protéique stimulent la production d'IgG1 et IgG3, les antigènes de nature polysaccharidiques des IgG2. C'est une stimulation répétée et

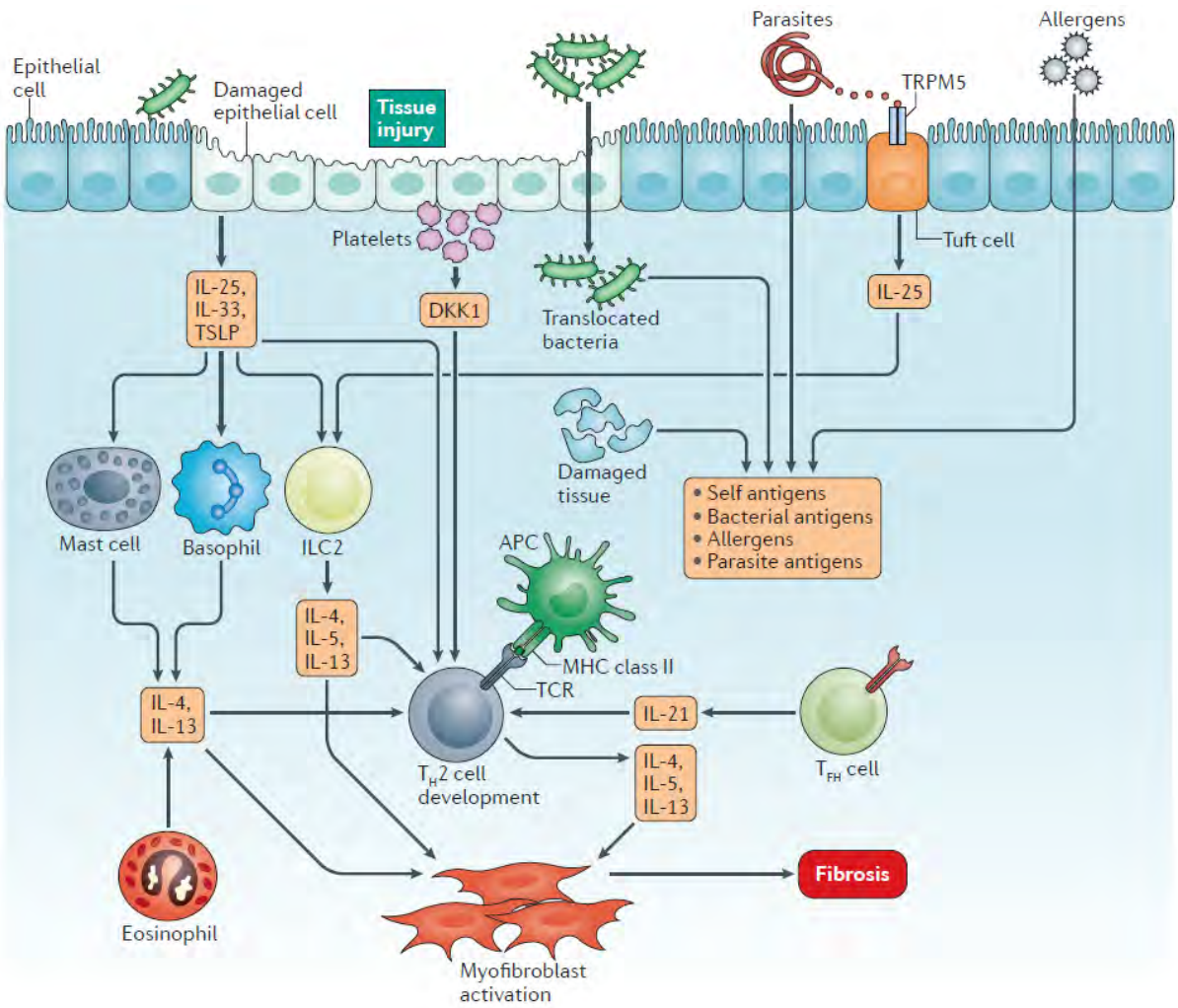


Figure 14. Polarisation de la voie Th2 (Gieseck, Wilson, et Wynn 2018). Suite à une lésion tissulaire ou une infection, les cellules épithéliales endommagées sécrètent l'IL-25, l'IL-33 et la lymphopoïétine stromale thymique (TSLP). Ces alarmines transmettent des signaux à travers les cellules innées, y compris les basophiles, les mastocytes et les cellules lymphoïdes innées du groupe 2 (ILC2), ce qui entraîne la production de cytokines de type 2, IL-4, IL-5 et IL-13. Ces cytokines soutiennent la différenciation naïve des cellules T CD4 + en cellules T helper 2 (Th2) et activent les fonctions effectrices des cellules Th2. *Dickkopf-related protein* 1 (DKK1) sécrétée par les plaquettes au site de la lésion peut également soutenir la différenciation des cellules Th2. La translocation bactérienne et les auto-antigènes exposés sur le site de la lésion tissulaire, ainsi que les antigènes d'allergènes et de parasites, peuvent être présentés aux cellules T par les cellules présentatrices d'antigène (APC). De plus, les antigènes du parasite peuvent être détectés par des cellules épithéliales spécialisées, appelées cellules ciliées (*tuft cell*), par l'intermédiaire de récepteurs (*transient receptor potential cation channel subfamily M member 5* ou TRPM5) entraînant la libération de l'IL-25. Cette dernière active ensuite les ILC2. L'IL-21 produite par les cellules folliculaires auxiliaires T (TFH) et l'IL-4 et l'IL-13 libérées par les éosinophiles peuvent potentialiser ces processus. TCR, T-cell receptor

récurrente par des antigènes dépendants des lymphocytes T qui induit une réponse immunitaire marquée par les IgG4 (Tableau I).

Les exigences pour la commutation de classe d'IgG4 sont similaires à celles pour les IgE. Les deux dépendent des IL-4/IL-13. Toutes les deux sont donc considérées comme faisant partie de la réponse immunitaire Th2 (Agresti et Vercelli 1999; Jabara *et al.* 1993; Punnonen, Aversa, *et al.* 1993; Vercelli *et al.* 1998). Cette interdépendance sur la voie Th2 présente notamment pour effet d'avoir les antigènes induisant des réponses IgE (c'est-à-dire allergènes et antigènes de nématodes) d'être également de bons inducteurs des réponses IgG4. Une autre caractéristique typique de la réponse immunitaire à IgG4 est sa tendance à n'apparaître qu'après une immunisation prolongée. Les raisons de cette polarisation ne sont pas décrites à ce jour.

Il y a des différences de régulation dans la commutation de classe, car l'occurrence des IgG4 sans IgE n'est pas rare. La notion de *réponse Th2 modifiée* a été utilisée pour la première fois en 2001 pour décrire la réponse humorale à l'allergène de chat (Platts-Mills *et al.* 2001). Ce terme fait référence à des patients produisant des IgG4 sans IgE détectables. Ceci a depuis été décrit pour d'autres allergènes comme ceux du venin d'abeille, des rongeurs, des animaux domestiques et l'albumine sérique (Jones *et al.* 2014; Matsui *et al.* 2005; Varga *et al.* 2013). Le mécanisme pourrait être lié à celui mis en place dans la désensibilisation aux allergènes développée dans le paragraphe 5.2.

Une autre régulation est décrite dans la littérature : il s'agit des effets de l'IL-10 et des cytokines apparentées. L'IL-10 interfère avec la commutation de classe et serait nécessaire à la différentiation des cellules B en plasmocytes sécréteurs d'IgG4 (F. Meiler *et al.* 2008; Punnonen, de Waal Malefyt, *et al.* 1993; Satoguina *et al.* 2005). Cette cytokine régule à la fois la production d'IgE et d'IgG4. L'IL-10 et IL-21 pourraient augmenter la production d'IgG4 *in vitro* (Avery *et al.* 2008; Wood *et al.* 2004). L'IL-10 a par ailleurs montré *in vitro* sa capacité à réduire la production d'IgE induite par l'IL-4 et l'expression du transcrit nucléaire Cε. Cette réduction se produit sans affecter la production d'IgG4 et l'expression du transcrit nucléaire Cγ4 (Lin, Freeman, et Nutman 2018). Aussi, l'IL-10 semble agir directement sur les lymphocytes B pour orienter la production d'IgG4.

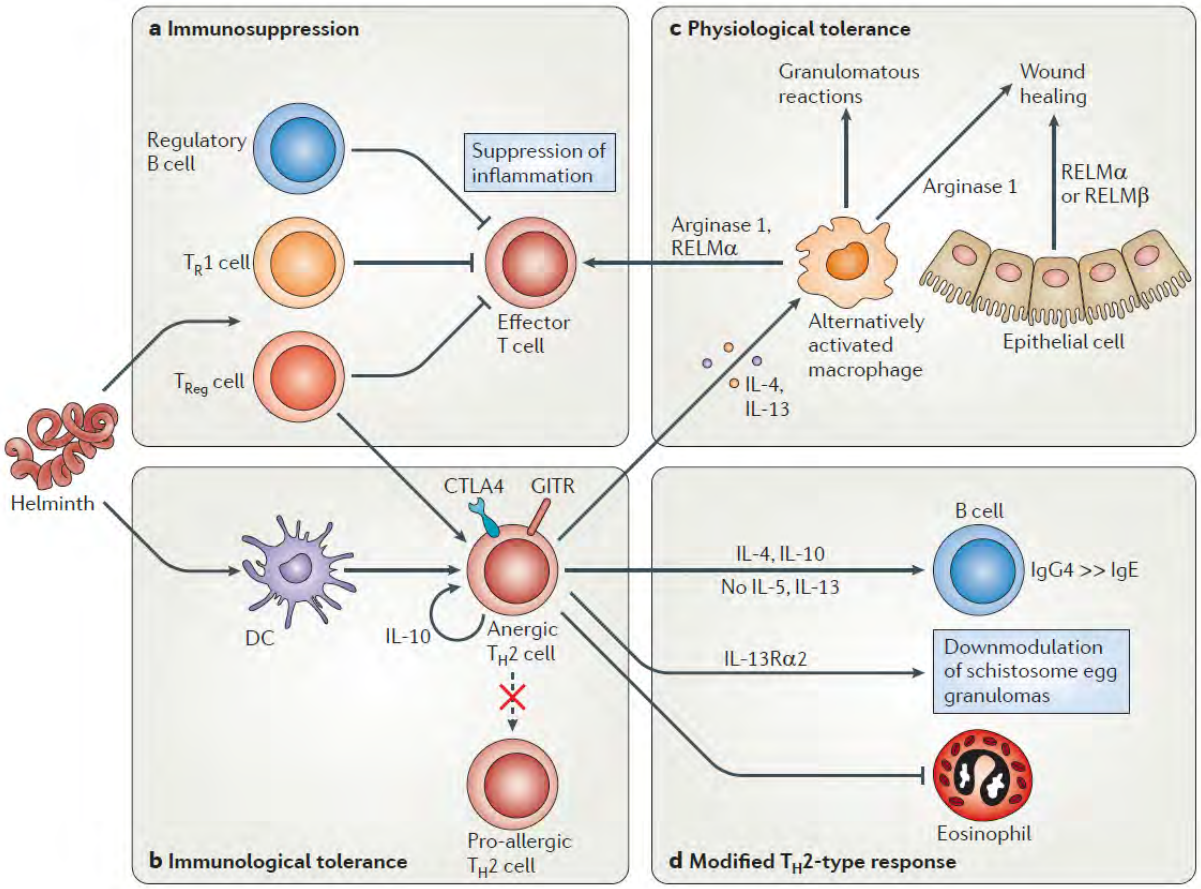


Figure 15. Modulation de la réponse immunitaire de l'hôte par les Helminthes (Allen et Maizels 2011). Quatre états de tolérance interdépendants sont illustrés. a Immunosuppression. Les réponses effectrices sont neutralisées par les cytokines suppressives libérées par les lymphocytes T régulateurs. b Tolérance immunologique. Les cellules effectrices T helper 2 (Th2) entrent dans un état d'anergie et ne progressent pas vers les cellules effectrices. L'état anergique est marqué par l'expression de *cytotoxic T lymphocyte antigen 4* (CTLA4) et *glucocorticoid-induced TNFR-related protein* (GITR) et peut être maintenu par l'interleukine-10 autocrine (IL-10). c Tolérance physiologique. Les populations cellulaires innées participent à la limitation et à la réparation des dommages, de sorte que le coût de l'infection est minimisé. d Réponse de type Th2 modifiée. Les effets en aval des mécanismes de régulation sont atténués. Cela comprend le remplacement de la production d'anticorps IgE par l'isotype IgG4 non inflammatoire, l'arrêt de la réponse aux éosinophiles et la modulation des granulomes qui se forment autour des œufs de schistosome. DC, cellule dendritique ; RELMα, resistin-like molecule α ; APC, cellule présentatrice de l'antigène ; Thn, lymphocyte T helper naïf ; Treg : lymphocyte T régulateur

5. Implications en pathologie

Plusieurs pathologies impliquent les IgG4 où elles peuvent constituer un marqueur biologique ou jouer un rôle direct dans la physiopathologie de l'affection.

5.1. Infections parasitaires

La production d'IgG4 est particulièrement induite lors des infections par les parasites. Comme nous l'avons vu précédemment, l'immunité médiée par les IgG4 n'est pas mise en jeu dans les infections bactériennes et virales (paragraphe 4). Elle a surtout été montrée chez les métazoaires et plus particulièrement chez les Helminthes. En plus du caractère pro-inflammatoire induit par ces parasites (Babu *et al.* 2009), nous retrouvons une part de l'immunité modulée par le versant lymphocytaire Th2. Les taux élevés d'IL-4 sont en effet retrouvés (Platts-Mills *et al.* 2004). L'induction de taux élevés d'IgG4 associés à des taux relativement normaux d'IgE chez les porteurs asymptomatiques a été décrite (Kurniawan *et al.* 1993).

Dans les schistosomiases, les filarioses et les infections intestinales à nématodes, à la fois l'immunité innée et l'immunité adaptative sont mises en jeu (Anthony *et al.* 2007). Cette réponse immunitaire est de type Th2. Cependant, les parasites tentent d'échapper à la réponse immunitaire et créent un environnement régulateur pour permettre leur survie (McSorley et Maizels 2012). Cette pérennité se traduit par une altération de l'activité des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) aux lymphocytes T. La polarisation de ces derniers est *de facto* orientée vers les lymphocytes T régulateurs (Treg) sécrétant de l'IL-10 et du TGF-β (Despommier 2002). Ces cytokines orientent les lymphocytes B vers la production d'IgG4 (Jeannin *et al.* 1998) (*cf. supra*). Cela peut permettre une relation symbiotique de longue durée entre l'helminthe et l'hôte, expliquant les périodes asymptomatiques ou infra-cliniques ; et caractérisées par la production accrue d'IgG4.

Pour exemple, parmi les Helminthes pouvant parasiter l'Homme, c'est dans la filariose qu'ont été retrouvés les taux les plus élevés d'IgG4 lors d'infections chroniques asymptomatiques. Lors des phases symptomatiques, les IgG1, IgG2 et IgG3 étaient retrouvées significativement augmentées, ce qui semble en accord avec le reflet d'un environnement régulateur spécifique des Helminthes et IgG4-dépendant (Kurniawan *et al.* 1993). Par ailleurs, les taux d'IgG4 spécifiques diminuent rapidement après un traitement efficace (Atmadja *et al.* 1995).

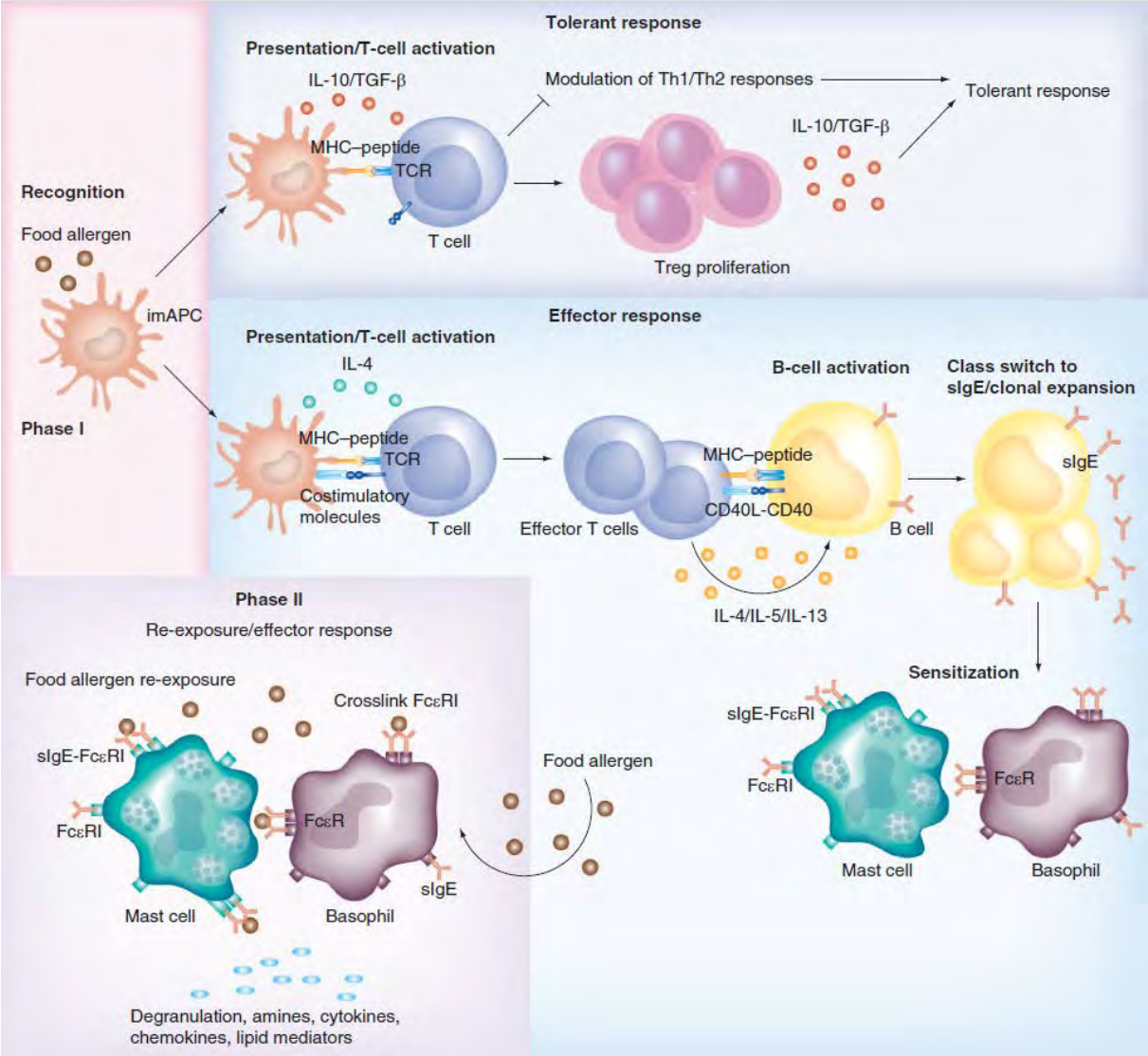


Figure 16. Physiopathologie de l'hypersensibilité immédiate IgE médiée (Gómez *et al.* 2013). Exemple de l'allergie alimentaire. Phase I : Sensibilisation : une fois que les cellules dendritiques (DCs) ont reconnu les allergènes alimentaires, ces derniers sont présentés sur les molécules CMH-II aux lymphocytes T naïfs. Dans les situations de tolérance, l'absence de molécules de costimulation exprimées à la surface des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) et la production des cytokines IL-10 et TGF-β induisent la prolifération des lymphocytes Treg spécifiques et une diminution des lymphocytes Th2 conduisant à un état de tolérance. Cependant, les DCs expriment des molécules de costimulation et des cytokines pro-Th2, ce qui induit la commutation isotypique des lymphocytes B vers les IgE et la différenciation des lymphocytes T en Th2. Les IgE circulantes spécifiques se fixent aux récepteurs de haute affinité FcεRI à la surface des polynucléaires basophiles et des mastocytes pour une réponse plus rapide lors de rencontres ultérieures avec l'antigène. Phase II : Phase effectrice : nouvelle exposition à l'allergène, les IgE réticulées se lient aux surfaces cellulaires et les activent, déclenchant un processus de dégranulation avec relargage de différentes molécules telles que l'histamine, la prostaglandine D, les leucotriènes LTc4, LTe4, LTd4, le facteur d'activateur plaquettaire PAF et le facteur chimiotactique des polynucléaires éosinophiles ECF-A ; et des chimiokines et cytokines, conduisant à une inflammation et une altération tissulaire. imAPC : CPA immature ; sIgE : IgE spécifique ; TCR : T-cell receptor.

5.2. Réactions d'hypersensibilités et allergies

Les IgG4 ont été largement étudiées dans les modèles d'exposition chronique aux allergènes.

Dans les réponses d'hypersensibilité immédiate, il existe deux phases immunologiques. Une première phase de sensibilisation/immunisation conduit à la synthèse des IgE spécifiques par la voie Th2. Elle est cliniquement muette. La deuxième phase, dite « de révélation » ou encore « effectrice », est cliniquement symptomatique. Elle est liée à l'activation immédiate par l'allergène des cellules effectrices, principalement les mastocytes et les polynucléaires basophiles, porteuses des IgE à leur surface (Figure 16).

Nous prendrons pour exemple l'hypersensibilité immédiate au venin d'abeille qui a été la plus décrite dans la littérature. Les personnes allergiques au venin d'abeille présentent des taux très élevés d'IgE spécifiques de la phospholipase A2 (PLA2, Api m1, allergène majeur) et un risque d'hypersensibilité immédiate quand elles sont sensibilisées (Vetter et Visscher 1998). Les apiculteurs exposés régulièrement à ce venin présentent des taux élevés d'IgG4 spécifiques de la PLA2 et un taux faible d'IgE spécifiques. Ces IgG4 ont un rôle protecteur vis-à-vis des réactions d'hypersensibilité sévères (García-Robaina *et al.* 1997; Varga *et al.* 2013). Ainsi les sérums de ces apiculteurs tolérants ont montré des ratios IgE/IgG4 spécifiques de PLA2 mille fois inférieur que les sujets allergiques présentant un risque d'hypersensibilité (van de Veen *et al.* 2013). L'effet des IgG4 serait lié à une liaison compétitive avec les IgE sur les allergènes du venin, limitant la formation d'immuns complexes à IgE capables de se lier aux mastocytes et empêchant ainsi leur activation (James et Till 2016; Trampert *et al.* 2018). La liaison des IgG4 au récepteur inhibiteur FcγRIIB contribuerait également (James et Till 2016). De plus, les Treg spécifiques de PLA2 et producteurs d'IL-10 sont induits chez les apiculteurs tolérants exposés à des concentrations élevées de venin d'abeille (Flurina Meiler *et al.* 2008). L'IL-10 est primordiale pour l'induction de la tolérance périphérique et possède des effets anti-inflammatoires, dont la suppression des lymphocytes Th2 pro-inflammatoires et d'autres cellules effectrices de l'inflammation d'origine allergique (mastocytes, polynucléaires basophiles et éosinophiles) (Coomes *et al.* 2017). De plus, l'IL-10 diminue la production d'IgE spécifiques et augmente la production d'IgG4 spécifiques du même allergène (Jeannin *et al.* 1998; F. Meiler *et al.* 2008).

Parmi les traitements disponibles pour l'allergie, seule l'immunothérapie spécifique allergénique (ITS) est curative. Par administration régulière de quantités croissantes d'allergènes, une tolérance immunitaire est induite (Larsen, Broge, et Jacobi 2016). En accord avec les observations faites chez les apiculteurs, une expansion des lymphocytes B mémoires commutés IgG4 spécifiques de PLA2 et une augmentation du taux d'IgG4 circulantes spécifiques de PLA2 ont été montrées chez les sujets ayant suivi un protocole d'ITS au venin d'abeille (Boonpiyathad *et al.* 2017).

Tableau II Classification des maladies auto-immunes liées aux IgG4 (Koneczny 2018). Les classes proposées par l'auteure sont liées au nombre de critères remplis par les auto-anticorps IgG4. Classe I : 2 ou 3 critères B.1 – 3 ; classe II : le critère B.1 avec des preuves de pathogénicité ; classe III : le critère B.1 sans preuve formelle ou par manque de données scientifiques pour l'heure.

Disease	Antigen	Epitope	Other antibodies	Antibody binding to affected organ	Pathogenic mechanism of IgG4	Active immunization or passive transfer model	Biopsy/imaging finding	Other pathogenic mechanisms	References
Class I diseases									
MuSK-MG	MuSK	Ig-like domain 1,2, CARD domain	10% IgG1, 2	Neuromuscular junction	Yes. Block of MuSK–Lrp4 and reduced AChR clustering, block of MuSK–ColQ interaction	Yes, passive transfer of serum and IgG4, active immunization	Pre- and postsynaptic abnormalities at the NMJ	IgG1/2? MuSK endocytosis? Block of retrograde signaling?	(2–28)
CIDP	CNTN1	Ig-like domains (protein core, glycosylation independent)	IgG2, 3	Paranodal axoglial junctions of motoneurons	Yes. Block of contactin/Caspr and NF155 interaction, paranode dismantling	Yes, passive transfer of IgG4	Nerve: transverse band loss and paranodal loop detachment	N/A	(29–35)
Pemphigus foliaceus Pemphigus vulgaris	Dsg1 Dsg3	N-terminal EC1 and EC2 domains, others	IgG1, 2, 3, IgA	Keratinocytes mostly in superficial layers of the skin Keratinocytes mostly in basal/ parabasal layers of the skin	Yes. Block of cell adhesion, cell sheet dissociation in cultured human keratinocytes, and human skin explants. Pathogenicity was reduced after depletion of IgG4	Yes, several different models, e.g., passive transfer of cloned patient abs (IgG4). Also passive transfer from pregnant women to the fetus	Antibodies in circulation, patient skin and mucosal keratinocytes	IgG1, Dsg clustering and endocytosis, and keratinocyte signaling	(36–57)
Thrombotic thrombocytopenic purpura	ADAMTS13	5 small solvent-exposed loops in the spacer domain, others	IgG1, 2, 3, IgM, IgA	IgG in blood circulation (ADAMTS13 is a secreted protease)	Yes. Cloned IgG4 blocked ADAMTS13 protease activity which leads to von Willebrand Factor (vWF) accumulation and microthrombosis	Yes, transfection with recombinant anti-ADAMTS13 scFv cloned from patients, passive transfer of mAbs to baboons	IgG4 levels associated with relapse, circulating antigen/ antibody complexes, some patients have exclusively IgG4	Yes. IgG1 cloned from patients also blocked ADAMTS13 activity. IgG, IgM: other mechanisms may include complement activation and clearing of ADAMTS13 from the circulation	(58–69)
Class II diseases									
Encephalitis, Morvan's syndrome	Lgi1	Leucine-rich repeat and EPTP repeat domains	IgG1, 2	Synaptic cleft of CNS neurons, hippocampal neurons	Unclear. Serum: block of Lgi1–ADAM22 interaction and reduction of AMPA receptors *in vitro*, excitation of hippocampal CA3 pyramidal cells *ex vivo*	N/A	Brain atrophy in encephalitis-associated regions	CD8+ T cells, complement activation	(70–78)
CIDP, AIDP	Neurofascin 155	Fibronectin type III domains (FN3, FN4), N-glycosylated	IgG1,2, 3, IgM, and IgA	Central and peripheral paranodes	No. Suspected: block of NF155–CNTN1–CASPR1 interaction	N/A	Sural nerve: paranodal demyelination	N/A	(32, 79–85)
CNS and PNS disorders	CASPR2	N-Terminal discoidin and laminin γ1 modules of Caspr2 (glycosylation independent)	IgG1 in 12–63%	Juxtaparanodal region of myelinated axons, hippocampal GABAergic interneurons	No. Suspected: serum could affect Gephyrin clustering by blocking TAG1–Caspr2 interaction	N/A	IgG depositions in brain biopsy of 1 patient (but also complement)	Complement depositions and immune cell infiltrates in brain biopsy in 1 patient	(86–96)
Membranous nephropathy	PLA2R	Conformational epitope in tertiary structure of CysR domain, some also in CTLD1 and CTLD7	IgG1,3	Podocytes (kidney)	No. Suspected: atypical complement activation *via* the lectin pathway by IgG4 (serum/ biopsies/purified IgG4, data not published). Block of podocyte adhesion to collagen IV?	No, due to technical challenges: PLA2R is not expressed in rodent podocytes	PLA2R-IgG in patient kidney biopsies	IgG1/3, classical complement activation	(97–109)
Membranous nephropathy	THSD7A	N/A, conformational epitope	IgG1,3	Podocytes (kidney)	Unclear, possibly a functional block of cell adhesion or altered signal transduction. Changes in architecture in cultured podocyte cells induced by IgG. Detachment and apoptosis of THSD7A overexpressing HEK293 cells	Yes, passive transfer of purified human or rabbit anti-THSD7A to mice, absence of complement deposition, altered podocyte architecture, increased stress fiber formation, activation of signaling at focal adhesions	Renal biopsy: IgG4 staining	IgG1/3? Complement staining (C5b-9)	(110–118)
Class III diseases									
Goodpasture syndrome	Type IV collagen	Alpha 3 chain of NCI domain	IgG1, 2, 3 (in few patients)	Glomerular basement membrane (kidney), lungs not tested	N/A	N/A	IgG deposition in glomerular basement membrane (kidney biopsy)	N/A	(119–123)
CIDP	CASPR1	N/A	IgG1	Paranodes (murine teased fibers)	N/A	N/A	Axonal degeneration		(35, 124)
DPPX encephalitis	DPPX	Extra- and intra-cellular domains (DPPX-L/S/X)	IgG1,2	Somatodendritic and perisynaptic neuronal surface, hippocampus, small intestine	No. Modulation/loss of DPPX and Kv4.2 by total IgG likely by IgG1/2. Hyperexcitation of enteric neurons.		Cerebrospinal (CSF) pleocytosis, increased IgG index or oligoclonal bands, and abnormal brain MRI	Modulation/loss of DPPX and Kv4.2 by total IgG likely by IgG1/2. Hyperexcitation of enteric neurons	(125–129)
Iglon5 parasomnia	Iglon5	Ig-like domain 2 (non-glycosylated)	IgG1, 2	Rat brain neuropil	N/A	N/A	Brainstem, hypothalamus: neuronal loss, deposits of hyperphosphorylated tau	IgG1 induces endocytosis of Iglon5	(130–135)

ADAMTS13, disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13; Caspr, contactin-associated protein; CIDP, chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy; CNTN1, contactin 1; DPPX, dipeptidyl peptidase-like protein 6; Dsg1, desmoglein 1; Dsg3, desmoglein 3; Ig, immunoglobulin; Iglon5, IgLON family member 5; Lgi1, leucine-rich, glioma-inactivated 1; Lrp4, low-density lipoprotein receptor-related protein 4; MUSK, muscle-specific kinase; PLA2R, phospholipase A2 receptor; scFv, single chain variable region fragments; THSD7A, thrombospondin type-1 domain-containing 7A; vWF, von Willebrand factor.

Des observations similaires en termes de taux d'IgG4 spécifiques et de corrélation avec la tolérance immune ont été faites chez les techniciens de laboratoires de recherche exposés chroniquement aux allergènes de rongeurs (rats et souris) (Jones *et al.* 2014; Matsui *et al.* 2005) et chez les sujets ayant suivi un protocole de désensibilisation par immunothérapie spécifique des phanères de chat (Freiberger *et al.* 2016), des acariens (Bożek *et al.* 2017) et de pollen de bouleau (Groh *et al.* 2017).

L'IgG4 constitue un facteur de protection vis-à-vis des réactions d'hypersensibilité et un marqueur de l'efficacité de la désensibilisation par ITS.

5.3. Auto-immunité

Parmi les différents effecteurs de l'auto-immunité, nous retrouvons les auto-anticorps issus de la rupture de tolérance au soi. Pour être considérés comme pathogènes, ces anticorps doivent se lier à un antigène extracellulaire et avoir un effet pathogénique direct. Celui-ci peut s'exercer immédiatement sur l'antigène cible ou sur l'ensemble de l'organe par recrutement et activation du système du complément ou des cellules immunitaires. Il aboutit à une lésion tissulaire (Naparstek et Plotz 1993).

Plusieurs pathologies auto-immunes sont associées à des auto-anticorps de nature IgG4. Ces derniers ont été soumis aux critères actuels définis par Dr Inga Koneczny (Koneczny 2018) :

- Présence de l'auto-anticorps spécifique de l'antigène extracellulaire dans l'organe affecté
- Démonstration d'un mécanisme pathogène *in vitro*
- Reproduction de la maladie chez les animaux par transfert passif
- Clinique et évolution sous traitement

Les critères sont présentés dans le Tableau II. Quatre auto-anticorps IgG4 respectant deux à trois de ces critères (B.1-3) ont été identifiés et montrent ainsi une réelle auto-immunité. Ils sont responsables de la myasthénie à anti-MuSK, de la polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique, des pemphigus superficiel et vulgaire et du purpura thrombotique thrombocytopénique. Neuf autres auto-anticorps de nature IgG4 ont pour l'heure été identifiés et respectent seulement le point B.1 avec un degré plus ou moins élevé de preuves allant tout de même dans le sens d'une auto-immunité à IgG4 (Tableau III).

Les quatre premiers auto-anticorps IgG4 font l'objet chacun d'une partie indépendante, classés par pathologie, les autres sont abordés ensemble dans un dernier paragraphe.

Tableau III Critères considérés par Koneczny (2018) pour définir l'auto-immunité à IgG4.

(A) Indicateurs pour une auto-immunité Ac-médiée	(B) Indicateurs spécifiques d'une pathogénicité à IgG4
1. Des auto-anticorps avec une spécificité pour un antigène extracellulaire sont présents dans l'organe affecté 2. Un mécanisme pathogène des anticorps est *in vitro* 3. La maladie auto-immune peut être reproduite de manière expérimentale chez l'animal par transfert passif de sérum humain ou d'anticorps purifiés ou bien par immunisation active à partir de l'antigène 4. Des indicateurs cliniques en faveur d'une auto-immunité sont présents, parmi lesquels une association HLA, une prédisposition génétique avec d'autres pathologies auto-immunes dans la famille, et une amélioration clinique après traitements réduisant le taux d'anticorps tels que les échanges plasmatiques ou les thérapies déplétant les lymphocytes B	1. Des auto-anticorps de la sous-classe IgG4 dirigés contre un antigène extracellulaire sont présents 2. Un mécanisme pathogène pour les IgG4 peut être démontré *in vitro.* Ces IgG4 pourraient être purifiées à partir de sérum de patients, et la pureté de ces IgG4 isolées pourrait être validée; dans l'idéal la fraction IgG1-3 déplétée en IgG4 devrait être utilisée comme groupe contrôle afin de s'assurer de l'origine des IgG4 des effets. Alternativement, des anticorps monoclonaux issus de plasmocytes-IgG4+ de patients pourraient être utilisés, néanmoins ils ne pourraient pas être représentatifs de l'ensemble des lymphocytes B auto-immuns 3. La maladie peut être reproduite chez l'animal par transfert passif d'IgG4 purifiées à partir de patients, d'anticorps monoclonaux IgG4 ou de fragments monocaténaires de régions variables issus de plasmocytes-IgG4+ de patients

5.3.1. La myasthénie à anti-MuSK

La myasthénie à anticorps anti-MuSK (*Muscle Specific Kinase*), une protéine associée au récepteur à l'acétylcholine (RAC), est une maladie auto-immune de la synapse neuromusculaire. Elle représente environ 40% des formes sans anticorps anti-récepteurs de l'acétylcholine (anti-RAC). C'est une maladie cliniquement caractérisée par un déficit moteur variable dans le temps (fatigabilité, faiblesse) et sélectif, ne prédominant que sur certains muscles (oculaires, palpébraux, d'innervation bulbaire, respiratoires, proximaux et axiaux) (Echaniz-Laguna 2012).

Environ 90% des anticorps sont d'isotype IgG4 (Koneczny *et al.* 2013; McConville *et al.* 2004). Le mécanisme pathogène est démontré *in vitro* avec des IgG4 purifiées (Huijbers *et al.* 2013; Koneczny *et al.* 2013). Il est important de noter que seules les IgG4 ont montré un effet pathogène. Par ailleurs, le transfert passif d'IgG4 purifiées chez la souris (Klooster *et al.* 2012) et l'immunisation active d'un modèle murin (Mori *et al.* 2012) ont reproduit la maladie.

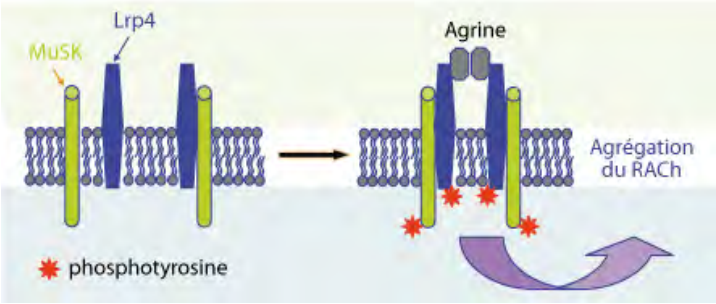


Figure 17 Modèle illustrant les interactions entre Lrp4, MuSK et agrine (d'après Cartaud, 2009). RACh, récepteur à l'acétylcholine ; MuSK, muscle specific kinase ; Lrp4, low-density lipoprotein receptor-related protein.

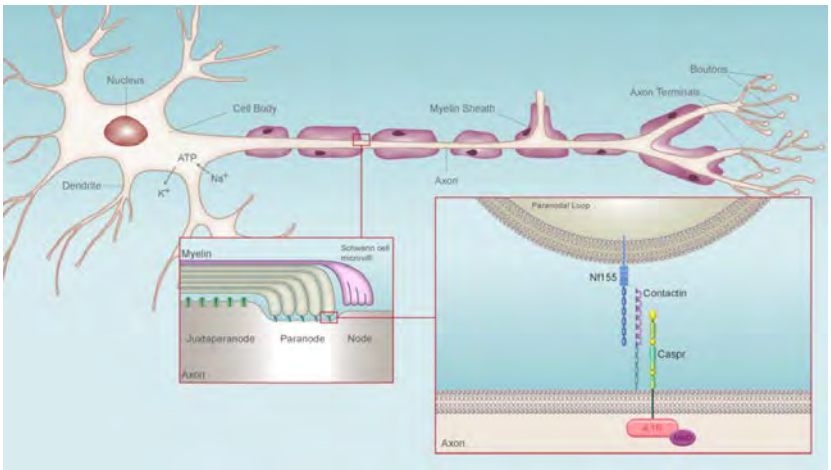


Figure 18 Localisation de Caspr au niveau des jonctions paranodales (MUTAGENETIX (TM), B. Beutler *et al.* 2018). Le complexe Caspr/contactine dans le neurolemme fait face à la neurofascine 155 (NF-155) de la membrane gliale. La portion cytoplasmique de Caspr interagit avec la protéine 4.1B qui stabilise le complexe Caspr/contactine. MBD, *membrane binding domain*.

La liaison des anticorps à MuSK affecte de manière équivalente sa propre fonction tyrosine kinase et sa fonction organisatrice du développement et de la maintenance de la jonction neuromusculaire. Comme la liaison du corécepteur de l'agrine, le « *low-density lipoprotein receptor-related protein* » (Lrp4), à MuSK est bloquée par l'IgG4 anti-MuSK, l'autophosphorylation de MuSK en réponse à l'agrine est inhibée, altérant *de facto* non seulement sa capacité à induire le regroupement des RAC, mais aussi à maintenir les groupements pré-existants (Cartaud et Cartaud 2009) (Figure 17). *In fine*, la densité des RAC est fortement diminuée au niveau de la synapse et l'efficacité de la transmission neuromusculaire est d'autant plus restreinte.

5.3.2. La polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique

La contactine 1 (CNTN1) est exprimée à la surface de l'axone au même titre que la paranodine ou *contactin-associated protein 1* (Caspr1), avec qui elle se lie à la neurofascine 155 à la surface de l'oligodendroglie (Faivre-Sarrailh et Devaux 2013; Peles 1997; Rios *et al.* 2000). Ce sont des molécules d'adhésion cellulaire à la jonction axogliale paranodale des fibres de myéline qui sont importantes pour l'efficacité de la propagation de l'influx nerveux le long des axones myélinisés (Figure 18).

Des anticorps dirigés contre CNTN1, d'isotypes IgG1 et IgG4 sont présents dans la polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique (PIDC) (Doppler *et al.* 2015, 2016; Miura *et al.* 2015; Querol *et al.* 2013). Ces auto-anticorps reconnaissent CNTN1 au niveau des jonctions axogliales paranodales des motoneurones et bloquent l'interaction de la neurofascine 155 avec CNTN1 dans le complexe CNTN1/Caspr1 (Labasque *et al.* 2014). Ce blocage conduit à une perte de la bande transverse et à un détachement de la boucle paranodale au niveau des nerfs périphériques. On retrouve alors cliniquement une ataxie sévère proprioceptive, une perte axonale quantitative et qualitative importantes, associés à un tremblement (Miura *et al.* 2015). Le transfert passif d'IgG4 spécifiques purifiées a démontré leur pathogénicité chez des rats Lewis (Manso *et al.* 2016) avec une perte des groupements paranodaux contenant le trio CNTN1, Caspr1 et NF-155 et une conduction nerveuse motrice altérée.

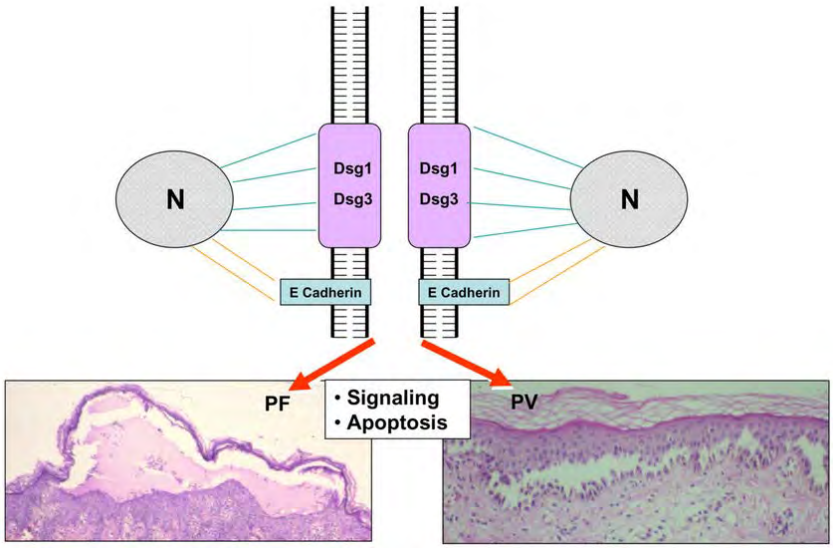


Figure 19 Mécanisme moléculaire d'acantholyse dans le pemphigus, (Culton *et al.* 2008). Les desmogléines 1 et 3 sont liées au réseau de filaments intermédiaires de kératine des kératinocytes tandis que l'E-cadhérine se lie au cytosquelette d'actine. Les anticorps pathogéniques du pemphigus foliacé ou du pemphigus vulgaire se lient au domaine extracellulaire de Dsg1 ou Dsg3 et déclenchent la signalisation intracellulaire conduisant au phénomène d'acantholyse. L'apoptose des kératinocytes résulte également de ce processus immunopathologique. Dsg1, desmogléine1 ; Dsg3, desmogléine 3 ; N, neurone ; PF, pemphigus foliacé ; PV, pemphigus vulgaris

5.3.3. Le pemphigus superficiel et le pemphigus vulgaire

Dans le pemphigus, les auto-anticorps se fixent à des protéines transmembranaires liant les kératinocytes entre eux, conduisant à une perte d'adhésion entre les cellules et la formation de cloques sur la peau (acantholyse) avec présence de cellules acantholytiques (kératinocytes isolés flottant dans la bulle, et qui sont devenus ronds). Les cibles antigéniques permettent de définir plusieurs entités de la maladie. Dans le pemphigus superficiel (ou foliacé), l'antigène ciblé par les auto-anticorps est la desmogléine 1 (Dsg1), qui est fortement exprimée au niveau des couches superficielles de l'épiderme. Concernant le pemphigus vulgaire, les auto-anticorps reconnaissent la desmogléine 3 (Dsg3) dont l'expression est localisée les couches basales et parabasales des muqueuses. Les formes muco-cutanées du pemphigus vulgaire présentent des anticorps contre Dsg1 et Dsg3 (Amagai 2003). Les desmogléines 1 et 3 sont liées aux filaments intermédiaires à base de kératine des kératinocytes. Les anti-Dsg1 et anti-Dsg3 pathogènes se lient à l'ectodomaine de la protéine Dsg1 ou Dsg3 respectivement et déclenche des voies de signalisation conduisant à l'acantholyse et à l'apoptose des kératinocytes (Culton *et al.* 2008).

Les auto-anticorps anti-Dsg sont essentiellement de nature IgG4 (Futei *et al.* 2001; Rock *et al.* 1989). Leur liaison au niveau des épitopes extracellulaires entraîne une dissociation du tapis cellulaire de kératinocytes humains *in vitro* (Ishii *et al.* 2005; Payne *et al.* 2005) et d'explants de peau humaine (Saito *et al.* 2012). De plus, la maladie peut être reproduite par transfert passif d'anticorps monoclonaux IgG4 issus de patients (Di Zenzo *et al.* 2012; Tsunoda *et al.* 2003). La pathogénicité des IgG4 a donc été démontrée en l'absence d'anticorps d'autres sous-classes. Par ailleurs, une étude a montré qu'un sérum déplété de ces auto-anticorps IgG4 réduisait la pathogénicité en limitant la fragmentation du tapis cellulaire de kératinocytes (Funakoshi *et al.* 2012). Toutefois, même si le taux d'IgG1 anti-Dsg1 et anti-Dsg3 est très inférieur à celui des IgG4 chez les patients atteints de pemphigus, leur pathogénicité serait identique (Lo *et al.* 2016). Sans précision quant à la nature de l'anticorps, il a été montré que ceux passant la barrière fœto-placentaire étaient responsables d'un pemphigus néonatal (Zhao, Chiang, et Murrell 2016).

Concernant le mécanisme d'action, la voie des *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) jouerait un rôle essentiel (Egu *et al.* 2017), par modulation des perturbations de l'adhésion cellulaire causée par les auto-anticorps (Spindler *et al.* 2018) et pourrait constituer une cible thérapeutique.

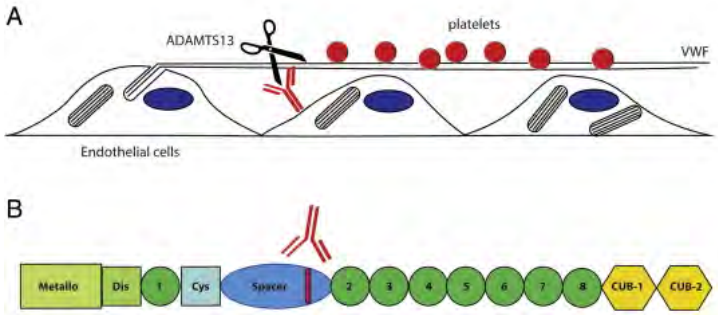


Figure 20 Pathogénicité des anticorps anti-ADAMTS13 (Voorberg 2015). A- Rôle d'ADAMTS13. B- Déterminant antigénique cible des anticorps anti-ADAMTS13

5.3.4. Le purpura thrombotique thrombocytopénique

ADAMTS13 (*A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats*) est la protéase du sang circulant qui clive le facteur von Willebrand (VWF). Dans le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) acquis auto-immun, les épitopes immuno-dominants sont majoritairement localisés dans le domaine *spacer* d'ADAMTS13 (95% des patients) (Voorberg 2015). Le VWF est synthétisé par les mégacaryocytes (20 % de sa synthèse) puis stocké dans les granules des plaquettes, et par les cellules endothéliales (80 % de sa synthèse) et stocké dans les corps de Weibel-Palade. Les multimères de VWF libérés par l'endothélium s'assemblent à la surface des cellules endothéliales. ADAMTS13 vient alors cliver rapidement ces multimères, ce qui permet de réguler l'adhésion des plaquettes circulantes. En présence d'auto-anticorps anti-ADAMTS13 (Luken *et al.* 2006), la protéase ne peut plus exercer son activité de clivage, les multimères ne sont plus clivés, les plaquettes adhèrent de façon durable et s'activent, pouvant conduire à des micro-thromboses (Thomas *et al.* 2015; Tsai et Lian 1998).

Les IgG4 (et les IgG1) obtenues à partir de sérums de patients atteints de PTT auto-immun ont démontré leur effet pathogénique *in vitro* par mesure de l'activité de l'ADAMTS13 (Schaller *et al.* 2014). Des fragments variables d'anticorps en simple chaîne (scFv, domaine VH relié au domaine VL par un peptide de liaison) issus d'anticorps anti-ADMTS13 de quatre patients non apparentés, ont été exprimés chez des souris. Ces anticorps monoclonaux ont montré une nette diminution de l'activité ADAMTS13 chez ces souris avec la formation de microthrombi persistants (Ostertag *et al.* 2016). Toutefois, la nature des anticorps initiaux d'où sont issus les scFv n'est pas précisée. Les IgG4 anti-ADAMTS13 sont retrouvées dans une large majorité des patients atteints de PTT auto-immuns (90%), les IgG1 étant retrouvées dans 52% des patients, loin devant les IgG2 et IgG3 selon cette même étude (Ferrari *et al.* 2009). Certains patients n'ont que des IgG4 anti-ADAMTS13 et l'élévation de ce taux d'IgG4 spécifique aurait tendance à être associée à la fréquence des rechutes (Ferrari *et al.* 2007).

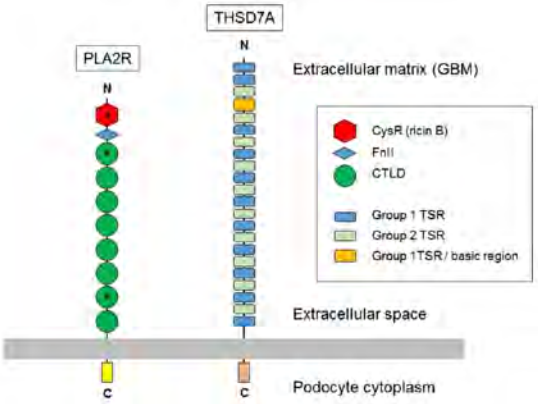


Figure 21 représentation schématique des protéines glomérulaires PLA2R et THSD7A (Beck 2017). PLA2R**,** phospholipase A2 receptor ; THSD7A, thrombospondin type-1 domain-containing 7A ; GBM, membrane basale glomérulaire ; CysR, domaine N-terminal riche en cystéine ; FnII, fibronectine de type II ; CTLD, *C-type lectin-like domain* ; TSR, *thrombospondin type-1 repeats*

5.3.5. Autres entités cliniques auto-immunes retrouvant des IgG4

Les auto-anticorps présentés ci-après ne montrent pas, en l'état actuel des connaissances, un niveau de preuve suffisant pour affirmer leur caractère pathogène en eux-mêmes. Nous les retrouvons tous dans les sphères rénale et du système nerveux central (SNC).

La glomérulonéphrite extra-membraneuse (GEM) est la cause la plus fréquente de syndrome néphrotique chez l'adulte. Le diagnostic de cette néphropathie glomérulaire est histologique. Il nécessite la réalisation d'une ponction biopsie rénale qui montre des dépôts granuleux d'IgG et de C3 sur le versant externe de la membrane basale glomérulaire. La plupart de ces formes (70%) correspondent à des dépôts d'auto-anticorps dirigés contre un antigène podocytaire, le récepteur de la phospholipase A2. Des anticorps anti-récepteurs de la phospholipase A2 dans le sérum des patients (anticorps anti-PLA2-R) peuvent être alors identifiés dans le sérum des patients. Ils sont essentiellement de nature IgG4 et activeraient le complément *via* la voie des lectines grâce à des portions de chaîne déficientes en galactose (Yang *et al.* 2016). L'antigène *trhombospondin type-1 domain-containing 7A* (THSD7A) est également exprimé à la surface du glomérule rénal (Tomas *et al.* 2014) et des auto-anticorps majoritairement IgG4 sont associés à la GEM (Tomas *et al.* 2016). Le mécanisme pourrait être très similaire à celui des anti-PLA2R (Beck 2017).

Le syndrome de Goodpasture est une affection très rare caractérisée par l'association d'une hémorragie pulmonaire, d'une glomérulonéphrite extra-capillaire et de la présence d'anticorps dirigés contre le domaine NC1 de la chaîne alpha 3 du collagène IV, constituant principal des membranes basales glomérulaires rénales et alvéolaires pulmonaires. Des IgG4 sont majoritairement retrouvées (Ohlsson *et al.* 2014).

Les derniers anticorps IgG4 identifiés et ayant un rôle dans l'auto-immunité sont impliqués dans des affections neurologiques. C'est la sphère de la neuro-autoimmunité dont l'enjeu est grandissant tant par la diversité des manifestations cliniques que par la difficulté de les traiter correctement (López-Chiriboga et Clardy 2017). Ces auto-anticorps sont dirigés contre *leucin-rich glioma-inactivated 1* (Lgi1), *contactin-associated protein 2* (Caspr2), *neurofascin 155* (NF-155), *contactin-associated protein 1* (Caspr1), *dipeptyl peptidase-like protein 6* (DPPX) et *IgLON family member 5* (Iglon 5). Leur mécanisme d'action consisterait en un blocage de l'interaction entre deux protéines (Querol *et al.* 2017). Lgi1 est exprimée au niveau de la fente synaptique des neurones du système nerveux central. C'est une protéine associée aux canaux potassiques voltage-dépendants (*voltage-gated potassium channel,* VGKC) et les auto-anticorps spécifiques sont associés à une encéphalite limbique et des crises dystoniques faciobrachiales (Ohkawa *et al.* 2013). Caspr2 est exprimée au niveau

du SNC et périphérique (SNP), dans la région juxta-paranodale des axones myélinisés et dans les interneurones GABAergiques de l'hippocampe. Elle est également associée aux VGKC. Les symptômes sont variables et impliquent le SNC et/ou le SNP, consistant principalement en un déclin cognitif, épilepsie et hyperexcitabilité neuronale (Pinatel *et al.* 2015).

5.4. Rejets de greffe liés aux IgG4

Compte-tenu des propriétés décrites *supra*, il n'est pas illégitime de se demander si les IgG4 ne pourraient pas être produites par exposition continue à un allo-antigène issu d'une transplantation d'organe. Et *in fine* possiblement induire un rejet de greffe.

Le premier cas rapporté dans la littérature fait état d'une néphrite tubulo-interstitielle liée aux IgG4 chez un jeune patient associée à un rejet de greffe rénale, cinq ans après la transplantation (Chibbar *et al.* 2018). Le taux d'anticorps anti-HLA contre le donneur (DSA, *donor specific antibodies*) de nature IgG4 lors du bilan pré-greffe est corrélé positivement avec un risque élevé d'épisodes de rejet aigu et une moins bonne survie du greffon à moyen terme (Khovanova *et al.* 2015). Ces observations sont indépendantes du résultat du crossmatch et du taux de DSA pan-IgG. Une autre étude a montré que les DSA IgG4 étaient associés au rejet chronique avec glomérulopathie et des lésions de fibrose interstitielle ou d'atrophie tubulaire (Lefaucheur *et al.* 2016).

Dans la greffe hépatique, une augmentation post-transplantation des anticorps IgG4 anti-glutathion-S-tranférase isoforme T1 est associée à une hépatite auto-immune *de novo* (McAlister 2019).

Enfin, des IgE spécifiques contre les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type I et II ont été identifiées dans les rejets de greffes cutanées et cardiaques de souris. Ces IgE spécifiques sont présentes chez l'Homme en situation de rejet (Farkas *et al.* 2019). Elles sont par ailleurs fonctionnelles et exercent leur fonction effectrices sur le greffon de par la présence de récepteurs FcεRI au niveau du cortex rénal et de la médullaire rénale.

5.5. Cancer

Plusieurs cancers sont associés à une élévation du taux d'IgG4 où elles peuvent participer directement à la physiopathologie de l'affection.

5.5.1. Mélanome cutané

Le mélanome cutané représente 10% des cancers de la peau. C'est une tumeur développée aux dépens du mélanocyte. Avec 15 404 nouveaux cas de mélanomes cutanés estimés en 2017 en France métropolitaine (8 061 hommes et 7 343 femmes) et 1 783 décès (1 036 hommes et 747 femmes), ce cancer représente près de 4% de l'ensemble des

nouveaux cas annuels de cancers et 1,2% des décès annuels par cancer, tous sexes confondus. C'est l'un des cancers dont l'incidence comme la mortalité a significativement augmenté sur la période 1980-2012 (Institut national du cancer 2018).

Les patients atteints de mélanome présentent des taux d'IgG4 sériques relativement augmentés (Daveau *et al.* 1977), généralement spécifiques de la tumeur. En effet, les cellules tumorales stimulent la production d'IgG4 *via* une réponse inflammatoire modifiée reposant sur des lymphocytes Th2. Cette réponse modifiée se caractérise par une production d'IL-4 et d'IL-10 (Karagiannis, Gilbert, Josephs, *et al.* 2013). Contrairement aux IgG1, les IgG4 sont de faibles activateurs des macrophages, incapables de déclencher la mort cellulaire des cellules tumorales en raison de leur plus faible affinité aux récepteurs Fc et de leur hétérobivalence. Quand les deux isotypes sont présents au niveau de la masse tumorale, les IgG4 sont capables de bloquer l'activité anti-tumorale des IgG1 spécifiques de la lésion via un mécanisme compétitif (Karagiannis, Gilbert, Nestle, *et al.* 2013). De plus, les IgG4 sont capables de se lier aux IgG1 par interactions Fc-Fc (Crescioli *et al.* 2016). Ainsi, les IgG4 induites par la tumeur sont associées aux mécanismes régulateurs par lesquels les tumeurs échappent à la réponse immunitaire destructrice (Karagiannis, Gilbert, Josephs, *et al.* 2013). Par ailleurs, le taux sérique d'IgG4 spécifiques de la tumeur est inversement corrélé au taux de survie (Karagiannis *et al.* 2015), plaçant les IgG4 comme facteur de pronostic négatif, d'autant plus au stade précoce de mélanome.

5.5.2. Cholangiocarcinome extra-hépatique

Les cancers biliaires sont relativement rares, avec une incidence d'environ 2 000 nouveaux cas par an en France et environ 3% des cancers digestifs (Bouvier *et al.* 2004). Les formes extra-hépatiques représentant environ un quart des cancers biliaires (Bouvier *et al.* 2004). Les hommes et les femmes sont touchés avec la même fréquence, le plus souvent après 60 ans. Les causes d'inflammations biliaires chroniques (cholangite sclérosante, lithiase intra-hépatique et parasitoses biliaires) sont des facteurs de risque importants pour ce cancer.

Une infiltration plasmocytaire avec des plasmocytes IgG4 positifs accompagne souvent ce cancer (Harada *et al.* 2012). Les cellules tumorales induisent la production des IgG4 *via* la synthèse d'IL-10, jouant ainsi le rôle des cellules présentatrices de l'antigène ou des lymphocytes Treg. En effet ces cellules tumorales expriment la molécule HLA-DR et un variant de Foxp3 (Harada *et al.* 2012).

Le rôle de ces IgG4 n'est pas encore complètement élucidé mais nous pouvons penser qu'il se rapproche de ce qui peut être observé dans le mélanome.

5.5.3. Myélome IgG4

Le myélome multiple, anciennement maladie de Kahler, est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération de plasmocytes tumoraux clonaux envahissant la moelle hématopoïétique, et produisant le plus souvent une immunoglobuline monoclonale détectable dans le sang et dans les urines. Il représente 10 à 15% des hémopathies malignes et moins de 2% de tous les cancers (Fouquet *et al.* 2017). La part des myélomes avec une IgG monoclonale est de 55% (HAS 2010; Miguel *et al.* 1995). Aussi, une part de ces myélomes présentent une immunoglobuline de type IgG4 (Papadea, Reimer, et Check 1989).

Une équipe américaine a entrepris d'évaluer la part des myélomes IgG4 et si ces myélomes pouvaient s'intégrer dans une forme de maladie associée aux IgG4 (MAG4) (Geyer *et al.* 2014). De manière rétrospective, 4% des patients avec un myélome IgG (6/158) étaient de type IgG4. La moyenne d'âge était de 64 ans (échelle : 53 – 87 ans) et la répartition retrouvait quatre hommes et deux femmes. Tous présentaient une immunoglobuline monoclonale circulante quantifiée en moyenne à 2,4 g/L (0,5 – 4,2 g/L), quatre avec une chaîne légère associée de type kappa et deux avec une lambda. Le caractère monoclonal est important à considérer car il permet de faire la différence avec la MAG4. Et ce d'autant plus qu'on retrouve des myélomes IgG4λ alors que les IgG4 circulantes normales sont rarement de type lambda (*cf. supra*). Aucun patient inclus dans l'étude ne présentait d'atteinte clinique ou d'imagerie en faveur d'une MAG4. Ainsi, sur leur échantillon de patients, la fréquence du myélome IgG4 concordait avec la répartition normale des IgG4 par rapport aux IgG totales.

D'autres case-reports mentionnent des myélomes IgG4 sans lien avec une MAG4 (Zhu et Wu 2015).

5.6. Maladie associée aux IgG4

La MAG4 est une pathologie inflammatoire fibrosante immuno-médiée capable de provoquer une atteinte multi-organes (Stone 2012; Kamisawa *et al.* 2015). Les organes impliqués partagent des caractères d'anatomopathologie et de sérologie communs (Kamisawa *et al.* 2003) incluant une hypertrophie ou une pseudotumeur inflammatoire des organes concernés, une infiltration lympho-plasmocytaire marquée et enrichie en plasmocytes IgG4-positifs et un degré variable de fibrose. Une élévation sérique des IgG4 polyclonales est communément observée (Carruthers *et al.* 2015).

5.6.1. Epidémiologie

Les données épidémiologiques de cette maladie ne sont pas connues de manière précise, la prévalence restant inconnue. Le manque de reconnaissance de la maladie et

l'absence de code dans la « Classification Internationale statistique des Maladies et des problèmes de santé connexes, 10ème révision » CIM 10 peuvent expliquer en partie les difficultés à obtenir ces données. Néanmoins, diverses cohortes réalisées dans plusieurs pays nous donnent des tendances de par leurs similitudes (Karim *et al.* 2016; Smerla, Rontogianni, et Fragoulis 2018; Umehara, Okazaki, Masaki, Kawano, Yamamoto, Saeki, Matsui, Sumida, *et al.* 2012; Wallace, Deshpande, *et al.* 2015; Wang *et al.* 2019).

La MAG4 a une prévalence augmentée chez les hommes avec un âge médian de 60 ans au diagnostic. Chez ces patients, les atteintes d'organes dits internes (pancréas, reins, rétropéritoine…) sont principalement retrouvées. La pancréatite est l'atteinte la plus caractéristique. Les femmes de même catégorie d'âge sont également touchées mais elles présentent plus de manifestations au niveau des organes superficiels (glandes salivaires, glandes lacrymales, orbites oculaires, sinus et peau) (Wang *et al.* 2019). Les manifestations cliniques de la MAG4 sont présentées dans le paragraphe 5.6.2.2. Dans l'étude mondiale établie à partir de deux cohortes ayant servi à l'élaboration des critères pour *The 2018 ACR (American College of Rheumatology)/EULAR (European League Against Rheumatism) Classification Criteria for IgG4-Related Disease*, la majorité des patients (63,5%) étaient des hommes, la moyenne d'âge à l'apparition des symptômes pour les pays asiatiques et non asiatiques étaient de 57,7 et 59,5 ans, respectivement (Wallace *et al.* 2019). Les formes cliniques avec localisation de la maladie au niveau de la tête et du cou étaient prédominantes chez les femmes. Les patients originaires d'Asie présentaient des taux d'IgG4 sériques plus importants comparativement aux autres régions du monde (Umehara, Okazaki, Masaki, Kawano, Yamamoto, Saeki, Matsui, Sumida, *et al.* 2012; Wallace *et al.* 2019). Ces données semblant confirmer ce qui avait déjà été décrit précédemment.

La pathologie est également reconnue chez l'enfant avec une présentation générale semblant similaire à l'adulte (Karim *et al.* 2016). Néanmoins, les manifestations oculaires, sous forme de masse orbitale, ou plus rarement de dacryoadénite (Smerla *et al.* 2018), semblent plus fréquentes que chez l'adulte. Ces formes représenteraient la forme clinique prédominante, devant la pancréatite (Karim *et al.* 2016; Smerla *et al.* 2018).

Concernant la sévérité et l'extension de la maladie, il n'y aurait pas de différence entre les femmes et les hommes. C'est ce qui a été montré dans une étude de 125 patients avec un diagnostic de MAG4 prouvé par biopsie, où le nombre d'organes impliqués, le taux d'IgG4 sérique et la gravité étaient similaires entre les femmes et les hommes (Wallace, Deshpande, *et al.* 2015).

Le taux de réponse aux traitements et le risque de rechute est variable selon le sexe : une étude a montré que les hommes avaient un meilleur taux de réponse au traitement à six et douze mois, mais aussi un plus grand risque de rechute, comparativement aux femmes (Wang *et al.* 2019).

5.6.2. Pathogénèse et manifestations cliniques

5.6.2.1. Pathogénèse

La pathogénèse de la MAG4 n'est pas complètement élucidée, mais il semblerait qu'elle soit en partie auto-immune avec une implication importante des lymphocytes T (T CD4+ et T folliculaires *helper* notamment), et des IgG4 qui ne sont pas pathogènes par elles-mêmes.

La recherche d'auto-antigènes pouvant expliquer l'augmentation des IgG4 a montré trois candidats possibles que sont la galectine-3, la laminine 511 et l'annexine A11 (Hubers *et al.* 2018; Perugino *et al.* 2019; Shiokawa *et al.* 2018). Toutefois, une confirmation reste à établir et les mécanismes à l'origine de la perte de leur tolérance sont inconnus.

Le consensus émergeant est que les IgG4 présents dans la MAG4 ne sont pas pathologiques mais représentent plutôt une réponse visant à réduire un autre processus primaire ou de multiples processus (Mahajan *et al.* 2014).

Une population clonale de lymphocytes T CD4+ cytotoxiques a été retrouvée dans la circulation générale et au niveau des tissus affectés (population cellulaire majoritaire des lésions fibrotiques) chez des patients atteints de MAG4, suggérant leur rôle primordial dans la physiopathologie (Mattoo *et al.* 2016). Ces cellules T cytotoxiques sont connues pour synthétiser les protéines granzyme B et perforine. De plus, elles produisent de l'interleukine 1 (IL-1), du *transforming growth factor-beta* (TGF-β) et de l'interféron gamma (IFN-γ) ; importants médiateurs de la fibrose retrouvée dans la MAG4. En 2018, la molécule de surface *signaling lymphocytic activation module F7* (SLAMF7) retrouvée initialement chez les cellules de la lignée lymphocytaire B, a été identifiée chez les lymphocytes T CD4+ cytotoxiques de patients atteints de MAG4 (Della-Torre *et al.* 2018). Dans cette même publication, un traitement par glucocorticoïdes des patients a permis de retrouver l'immunophénotypage du groupe contrôle et donc de réduire cette population T CD4+ SLAMF7+.

Les lymphocytes T folliculaires *helper* (Tfh), situés principalement dans les centres germinatifs et qui participent à la différenciation et la prolifération des lymphocytes B, ont été retrouvés significativement plus élevés dans la circulation générale et les tissus affectés des patients atteints de MAG4 (Chen *et al.* 2018). De plus, les données présentées indiquent une plus grande efficacité de ces Tfh par rapport à ceux de patients contrôles sains. Les lymphocytes T folliculaires régulateurs (Tfr), qui permettent de réguler avec les Tfh la commutation isotypique et la prolifération des lymphocytes B dans le centre germinatif, ont également été retrouvés augmentés dans la circulation sanguine des patients atteints de MAG4 (Ito *et al.* 2019).

Ainsi, l'hypothèse selon laquelle les lymphocytes T CD4+ cytotoxiques orchestrent la MAG4 par une présentation continue d'antigène par les lymphocytes B et les plasmablastes (Mattoo *et al.* 2016) peut prendre tout son sens. Une réponse lymphocytaire Tfh qui est dissociée des lymphocytes T CD4+ cytotoxiques est susceptible d'être responsable du

développement des centres germinatifs au sein des ganglions lymphatiques et de la production de cytokines telle que l'IL-4. Ceci conduirait à la commutation isotypique vers les IgG4, aboutissant *in fine* à la création de plasmablastes et des plasmocytes à longue durée (LLPC) de vie sécrétant des IgG4. Les traitements ciblés sur les lymphocytes B ne conduisent pas toujours à une normalisation du taux d'IgG4 circulant, y compris après rémission clinique, ce qui implique que les LLPC continuent de produire ces IgG4 (qui ne pilotent donc pas en elles-mêmes la pathologie).

5.6.2.2. Manifestations cliniques

La MAG4 peut impliquer un ou plusieurs organes, des manifestations ayant été démontrées dans quasiment tous les organes (Brito-Zerón *et al.* 2014; Kamisawa *et al.* 2015; Stone, Zen, et Deshpande 2012; Wallace, Deshpande, *et al.* 2015). Les patients présentent souvent un développement subaigu d'une masse dans l'organe principal affecté ou un élargissement diffus d'un organe (Stone, Zen, *et al.* 2012). Les tissus affectés partagent des caractères histopathologiques particuliers (Deshpande *et al.* 2012).

Bien que plusieurs organes puissent être affectés, quatre phénotypes cliniques principaux ont pu être identifiés en utilisant l'analyse en Classes Latentes, pour catégoriser les 765 patients des deux grandes cohortes transversales internationales (Wallace *et al.* 2019). Cette analyse a permis de faire ressortir quatre groupes représentant chacun 20 à 30% de tous les patients :

- Groupe 1 : maladie pancréato-hépato-biliaire
- Groupe 2 : fibrose rétropéritonéale et/ou aortite
- Groupe 3 : maladie limitée à la tête et au cou
- Groupe 4 : syndrome de Mikulicz classique avec implication systémique

Ces groupes résultent d'une analyse statistique, leurs pendants moléculaire et génétique restent à décrire. Les manifestations décrites sont listées dans le tableau IV présenté ci-dessous (Khosroshahi et Stone 2011a; Okazaki *et al.* 2011; Stone, Khosroshahi, *et al.* 2012).

La **lymphadénopathie** asymptomatique liée aux IgG4 est fréquente, allant jusqu'à 80% des patients atteints de pancréatite auto-immune (Hamano *et al.* 2006). La lymphadénopathie correspond à une augmentation de volume palpable (> 1 cm) d'au moins un ganglion lymphatique; elle est classée comme localisée lorsqu'elle survient sur 1 seule zone du corps et généralisée lorsqu'elle survient sur au moins deux zones du corps (Douketis 2019). Elle est habituellement observée avec d'autres manifestations cliniques ou biologiques du syndrome mais peut constituer la manifestation initiale ou bien être la seule (Cheuk *et al.* 2008).

Tableau IV Revue des manifestations cliniques retrouvées dans la maladie associée aux IgG4

Atteintes cliniques décrites dans la Maladie à IgG4
• Pancréatite auto-immune de type I (liée aux IgG4) • Cholangite sclérosante liée aux IgG4 • Maladie de Mikulicz (dacryoadénite et sialadénite liées aux IgG4) • Sialadénite sclérosante (tumeur de Küttner, maladie des glandes submandibulaires liée aux IgG4) • Pseudotumeur inflammatoire de l'orbite oculaire (inflammation orbitale liée aux IgG4) • Fibrose rétropéritonéale idiopathique (maladie d'Ormond) et troubles associés (fibrose rétropéritonéale liée aux IgG4, mésentérite liée aux IgG4) • Aortite et périaortite sclérosantes chroniques (aortite ou périaortite liée aux IgG4) • Thyroïdite de Riedel (maladie thyroïdienne liée aux IgG4) • Pneumopathie interstitielle liée aux IgG4 et pseudotumeurs pulmonaires inflammatoires (maladie respiratoire liée aux IgG4) • Maladie rénale liée aux IgG4 (incluant la néphrite tubulo-interstitielle et la glomérulonéphrite membranaire, secondaires aux IgG4) • Hypophysite liée aux IgG4 • Pachyméningite liée aux IgG4 • Autres organes ou tissus atteints : peau, foie, estomac, sein, prostate, ovaire, péricarde, nasopharynx, amyloïdose

La **pancréatite auto-immune** de type 1 (liée aux IgG4, PAI1) est la forme prototypique de la maladie associée aux IgG4. La prévalence de cette entité avait été estimée au Japon à 0,82 pour 100 000 personnes mais elle était possiblement sous-estimée en raison d'une méconnaissance de la pathologie (Shimosegawa et Kanno 2009). Cette forme liée aux IgG4 correspond à la pancréatite auto-immune de type 1, aussi connue sous le nom de pancréatite sclérosante lymphoplasmocytaire. La pancréatite de type 2 est quant à elle, indépendante des IgG4 et également appelée pancréatite avec lésions granulocytaires épithéliales ou pancréatite chronique idiopathique centro-canalaire (Hart *et al.* 2016). La pancréatite auto-immune représenterait 2% des pancréatites chroniques diagnostiquées chez les patients (Nishimori *et al.* 2007).

La **cholangite sclérosante** liée aux IgG4, distincte cliniquement de la cholangite sclérosante primitive, est la manifestation extra-pancréatique la plus fréquente de la PAI1, avec une occurrence chez plus de 70% des patients (Khosroshahi et Stone 2011a).

L'implication des glandes salivaires et lacrymales est également largement retrouvée puisqu'elle est présente chez 40% des patients atteints de PAI1. En revanche, la PAI1 n'est retrouvée que chez 17% des patients atteints de sialadénite (Hamano *et al.* 2006; Masaki *et al.* 2009). Un élargissement des glandes lacrymales et de la glande parotide (anciennement appelé maladie de Mikulicz) et/ou un élargissement de la glande sous-mandibulaire (anciennement appelé tumeur de Küttner ou sialadénite sclérosante) peuvent être présents (Geyer et Deshpande 2011). Bien que l'atteinte des glandes lacrymales et salivaires puisse

être globale ou isolée sur quelques glandes, c'est la combinaison d'une atteinte des glandes lacrymales, parotide et sous-mandibulaire qui définit la maladie de Mikulicz associée au IgG4 (Scully 2014; Yanoff et Sassani 2015).

Des **atteintes isolées des glandes lacrymales** (dacryoadénite liée aux IgG4) ou des atteintes inflammatoires de l'œil ou de l'orbite oculaire liées aux IgG4 ont été identifiées (Sato *et al.* 2008). Ces manifestations ophtalmiques sont retrouvées chez 17 à 23% des patients atteints de maladie associée aux IgG4 (Ebbo, Patient, *et al.* 2017; Wallace, Deshpande, et Stone 2014; Wu *et al.* 2015). Cette dernière serait responsable de 25 à 50% des pseudotumeurs orbitales (Andrew *et al.* 2015). Un proptosis est également souvent observé dans ces contextes.

La **fibrose rétropéritonéale** fait également partie des atteintes communes de la MAG4, la plupart des cas rapportés idiopathiques seraient en réalité liés à cette dernière (Khosroshahi *et al.* 2013; Stone 2011; Zen, Onodera, *et al.* 2009). Ces cas ont montré une implication prépondérante de l'aorte infrarénale et des artères iliaques. Une inflammation chronique et un remaniement fibrotique est souvent constaté avec atteinte des tissus périphériques (tels que les uretères), ce qui conduit à une uropathie obstructive. Cette atteinte peut être isolée (Zen *et al.* 2006) ou être associée à d'autres atteintes d'organes (Stone 2011).

La MAG4 a été reconnue comme une des causes **d'aortite** non infectieuse (Stone 2011) avec des cas d'aortite thoracique, des anévrysmes de l'aorte abdominale et des périaortites abdominales (Kasashima *et al.* 2008; Stone *et al.* 2010). L'atteinte est souvent associée à une fibrose rétropéritonéale (Stone 2011), mais 20% des cas présentent un rétrécissement de la lumière aortique (Ozawa *et al.* 2017).

La **thyroïdite de Riedel** est la forme clinique de la MAG4 pour la thyroïde. C'est une des formes les plus rares de thyroïdite chronique puisque sa prévalence serait cinquante fois plus faible que la thyroïdite de Hashimoto (Schwaegerle, Bauer, et Esselstyn 1988). La présentation classique est celle d'un goître dur avec une symptomatologie en accord avec la pression exercée sur les tissus adjacents (dyspnée, dysphagie, enrouement). Du fait de son rareté, le diagnostic est souvent fait après résection thyroïdienne qui permet aussi de soulager les symptômes (Falhammar *et al.* 2018; Takeshima *et al.* 2015).

Les **formes pulmonaires et pleurales** de la MAG4 peuvent être asymptomatiques ou présenter de la toux, une hémoptysie, une dyspnée, une pleurésie ou une douleur thoracique. Des pseudotumeurs ou infiltrations responsables de la clinique ont été associées à la PAI1 (Shrestha *et al.* 2009; Zen, Inoue, *et al.* 2009). Des critères diagnostiques spécifiques de ces atteintes ont été proposés (Matsui *et al.* 2016).

L'atteinte rénale type de la MAG4 est la **néphrite tubulo-interstitielle** (Murashima, Tomaszewski, et Glickman 2007; Saeki *et al.* 2010; Watson, Jenkins, et Bellamy 2006). Les symptômes décrits étaient plus souvent en lien avec les manifestations extrarénales (Cornell 2010; Yamaguchi *et al.* 2012). Une étude rétrospective australienne a montré que les

néphrites tubulo-interstitielles liées aux IgG4 représentaient 1% des biopsies rénales réalisées sur 10 ans (Mac *et al.* 2017). Récemment, des atteintes glomérulaires ont été identifiées, souvent associées aux atteintes néphritiques (Alexander *et al.* 2013; Stone 2013).

D'autres organes et tissus ont été rapportés avec des atteintes en lien avec la MAG4, sur des case-reports ou des petites séries de patients. Ces manifestations incluent des atteintes cutanées (Charrow *et al.* 2016), hépatiques (Umemura *et al.* 2007; Zen *et al.* 2007), gastriques (Uehara *et al.* 2010), mammaires (Cheuk *et al.* 2009), neuroméningées (avec hypophysites (Haraguchi *et al.* 2010; Shimatsu *et al.* 2009)) ou pachyméningites (Joshi *et al.* 2015), prostatiques (Uehara *et al.* 2010), ovariennes (Sekulic, Pichler Sekulic, et Movahedi-Lankarani 2017), péricardiques (Sugimoto *et al.* 2008), nasopharyngées (Carruthers, Miloslavsky, et Stone 2013; Fatemi et Fang 2013), des perforations de la cloison nasale (Della-Torre, Mattoo, *et al.* 2014) et dans un cas d'amyloïdose (Karim, Clahsen-van Groningen, et van Laar 2017).

5.6.3. Diagnostic

Le diagnostic de la MAG4 repose sur une combinaison de critères histopathologiques, biologiques, cliniques et d'imagerie. C'est bien souvent un diagnostic d'élimination, il conviendra donc de bien être attentif aux diagnostics différentiels abordés au paragraphe 5.6.3.1.4.

5.6.3.1.1. Quand évoquer une MAG4 ?

En accord avec la pathogénèse et les manifestations cliniques exposées *supra*, la possibilité de présenter la MAG4 doit être suspectée chez les patients ayant au moins un des organes ou tissus classiquement affectés qui soit atteint. Les exemples de patients présentant un risque élevé d'avoir une MAG4 sont ceux qui arborent une pancréatite chronique d'étiologie indéterminée, une cholangite sclérosante non étiquetée, un élargissement bilatéral des glandes salivaires et/ou lacrymales, une fibrose rétropéritonéale, une pseudotumeur orbitale ou un proptosis. L'association d'une de ces conditions avec un taux élevé d'IgG4, des symptômes allergiques et/ou un tissu fibrotique augmente la probabilité de MAG4.

5.6.3.1.2. Les différents tests contributifs dans le diagnostic

Plusieurs examens para-cliniques associant des analyses biologiques, anatomopathologiques et d'imagerie sont pertinents pour établir le diagnostic de MAG4.

La confirmation diagnostique par **biopsie tissulaire** est importante afin d'exclure le caractère malin ou les autres pathologies pouvant mimer la MAG4 (Khosroshahi *et al.* 2015). Si les caractères histopathologiques typiques sont retrouvés associés à des signes cliniques

compatibles avec un diagnostic de MAG4, d'autres biopsies au niveau d'autres tissus ou organes ne sont pas nécessaires. Ceci est d'autant plus vrai si ces autres localisations s'améliorent avec la corticothérapie. Les seules zones non recommandées pour la réalisation d'une biopsie en vue d'un diagnostic de MAG4 sont les ganglions lymphatiques. En effet, d'autres conditions peuvent expliquer l'augmentation de plasmocytes IgG4 positifs dans les ganglions lymphatiques (tumeurs malignes, granulomatose avec polyangéite ou syndrome de Churg and Strauss, maladie de Castleman notamment). La reprise d'anciennes biopsies (conservées sous forme de lames enrobées de paraffine, à +4°C) avec un marquage anti-IgG4 peut s'avérer utile (Khosroshahi *et al.* 2015).

L'analyse histopathologique montre un infiltrat lymphoplasmocytaire dense avec prédominance de plasmocytes IgG4 positifs (IgG4+) et de lymphocytes T CD4+, une fibrose de type «storiforme». Il s'agit d'un motif en roue de carrosse avec un centre parfois spiralé, et des bandes de fibrose émanant de celui-ci avec une trame irrégulière emmêlée ressemblant un peu à celle d'une natte de paille (Figure 22).

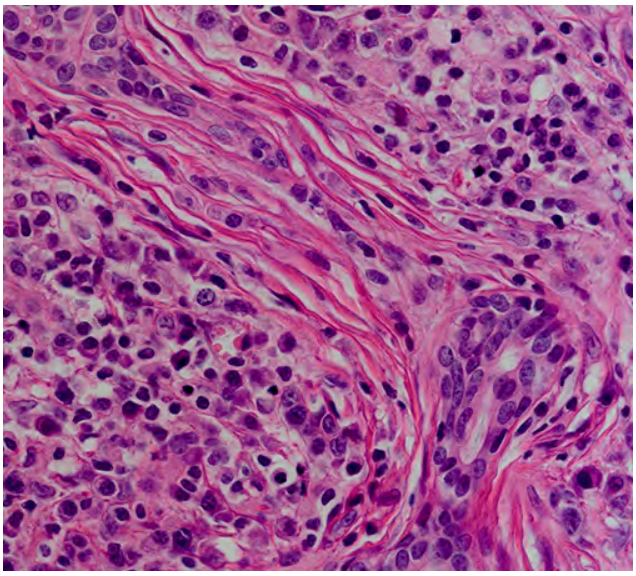


Figure 22 Biopsie de glande lacrymale avec un infiltrat lymphoplasmocytaire et une fibrose d'aspect "storiforme" (John H Stone, MD). Un motif en roue de carrosse avec un centre parfois spiralé, et des bandes de fibrose émanant de celui-ci avec une trame irrégulière emmêlée ressemblant un peu à celle d'une natte de paille est caractéristique de la MAG4.

Le dosage sérique des IgG4 doit être effectué. Toutefois une élévation du taux n'est pas spécifique de la MAG4 (*cf. infra*). Le taux d'IgG4 sérique est élevé chez environ deux-tiers des patients, en considérant le seuil de 1,35 g/L (Carruthers *et al.* 2015; Chen, Cheuk, et Chan 2010). Une minorité de patients (Wallace, Deshpande, *et al.* 2015) présente des concentrations en IgG4 sériques normales avant traitement malgré la présence de modifications histopathologiques typiques de la maladie (Deheragoda *et al.* 2007). Il n'y a pas de corrélation entre le taux d'IgG4 et le degré d'activité de la maladie (Chen *et al.* 2010) mais il y a une tendance en ce qui concerne le taux et le nombre d'organes et/ou tissus atteints (Kamisawa, Okamoto, et Funata 2005). Par ailleurs, le dosage est utile en cas de

suivi, une décroissance étant observée avec le traitement par corticothérapie (Kamisawa *et al.* 2005). Une étude sur les concentrations sériques d'IgG4 a été réalisée au Massachusetts General Hospital sur une période de 10 ans (2001 à 2011) afin de tester les performances de l'analyse (Carruthers *et al.* 2015). Sur cette période, 190 patients avaient des IgG4 sériques augmentées. Pour comparaison, 190 patients ayant des IgG4 normales ont été sélectionnés au hasard. Les résultats suivants ont été observés :

- Soixante-cinq des soixante-douze patients ayant une MAG4 probable ou définie avaient des IgG4 augmentées (moyenne : 4,05 g/L ; échelle : 1,40 à 20,00 g/L), donnant une sensibilité de 90%
- Parmi les 308 sujets sans MAG4, 125 présentaient des IgG4 augmentées (moyenne : 2,34 g/L ; échelle : 1,35 à 11,80 g/L) et 183 avaient des IgG4 normales, soit une spécificité de 60%
- La valeur prédictive négative du test dans ces groupes était de facto de 96% tandis que la valeur prédictive positive était seulement de 34%
- Doubler le cut-off de positivité du seuil IgG4 de 1,35 à 2,70 g/L permettait d'accroître la spécificité à 91% mais diminuait en contrepartie la sensibilité à 35%, ce qui n'est pas acceptable
- L'analyse du ratio IgG4/IgG totales n'améliorait pas les caractéristiques du test

En 2016, une méta-analyse de neuf études cas-témoin a montré qu'augmenter le seuil de 1,35 g/L à 1,44 g/L permettait d'augmenter la spécificité à 83%, en maintenant la sensibilité à 87% (Hao *et al.* 2016).

La valeur seuil d'1,35 g/L a été déterminée en 2001 pour permettre de différencier la PAI1 du cancer du pancréas avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 97% (Hamano *et al.* 2001). La cohorte comprenait alors 20 patients atteints de PAI1 et 70 de cancers pancréatiques ; des patients atteints d'autres pathologies et des patients contrôles étaient aussi représentés mais leurs caractéristiques non décrites. On retrouve encore parfois une ancienne appellation de la MAG4 sous le nom de syndrome hyper-IgG4 en raison d'une augmentation d'IgG4 que l'on pensait spécifique de la maladie et pathognomonique. L'augmentation du taux peut être retrouvée dans de nombreuses autres situations (*cf. infra*).

La concentration des plasmablastes circulants serait un meilleur biomarqueur que le taux d'IgG4 sérique, tant pour le diagnostic que pour suivre l'activité de la maladie (Lin *et al.* 2017; Mattoo *et al.* 2014; Wallace, Mattoo, *et al.* 2015). En effet, les patients atteints de MAG4 et non traités ont montré des concentrations très élevées de plasmablastes circulants. L'identification se fait par cytométrie en flux sur sang périphérique avec un fenêtrage sur la population CD19low CD38+ CD20- CD27+ (Mattoo *et al.* 2014). La cohorte étudiée par Docteur Mattoo et ses collègues comprenait 37 patients atteints de MAG4 non encore traités et 35 témoins contrôles (incluant 14 sujets sains et 21 patients ayant une pathologie inflammatoire active non encore traitée). Les analyses retrouvaient :

- Une élévation significative du nombre total de plasmablastes circulants (médiane : 0,470 G/L ; échelle : 0,061-7,952 G/L) comparativement aux patients avec inflammation (médiane : 0,052 G/L ; échelles : 0,002-0,429 G/L) et aux sujets sains (médiane : 0,009 G/L ; échelle : 0,000-0,065 G/L)
- Treize patients atteints de MAG4 (36%) avaient des IgG4 sériques inférieures à 1,35 g/L (moyenne : 0,60 g/L ; échelle : 0,05-1,23 g/L). La médiane du nombre de plasmablastes circulants n'était cependant pas significativement plus basse dans ce groupe (0,378 G/L) comparativement aux patients atteints de MAG4 avec des IgG4 supérieures ou égales à 1,35 g/L (0,516 G/L), p=0,24
- Parmi les patients atteints de MAG4 ; douze ont reçu un traitement par rituximab (deux doses de 1000 mg espacées de 15 jours). La médiane des plasmablastes circulants était de 0,636 G/L (échelle : 0,112-4,159 G/L) au cours de la poussée de la maladie et passait à 0,142 G/L (échelle : 0,039-0,415 G/L) en phase de rémission

Aussi, ces études montrent bien que les plasmablastes circulants sont augmentés chez les patients atteints de MAG4 non traités, même en l'absence d'élévation du taux d'IgG4 sérique. D'autres études sont nécessaires pour déterminer la capacité de ce paramètre à prédire les rechutes de la maladie, s'il s'agit bien de plasmablastes IgG4+ et leur réponse vis-à-vis des différents traitements.

Les **examens d'imagerie** peuvent faire appel à l'échographie, à la tomodensitométrie par contraste, à l'imagerie par résonance magnétique (IRM), à la tomographie par émission de positrons (TEP) et à la tomodensitométrie (scanner). Toutefois, la TEP couplée au 2-[^{18}F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose (DFG) et le scanner se sont révélés plus sensibles que l'imagerie conventionnelle dans 65% des cas (Ebbo *et al.* 2014). Quelle que soit la technique, une bonne corrélation a été retrouvée avec la réponse clinico-biologique au traitement *(Ebbo et al.* 2014). Il y a donc un intérêt dans le suivi et le dépistage des rechutes.

5.6.3.1.3. Les critères diagnostiques de la MAG4

Un groupe multinational et multidisciplinaire d'experts a proposé des premières recommandations pour le diagnostic de la MAG4 en 2012. Ils reposent sur les résultats histopathologiques permettant de classer la maladie en probable ou définie s'ils sont présents (Deshpande *et al.* 2012; Stone, Khosroshahi, *et al.* 2012; Umehara, Okazaki, Masaki, Kawano, Yamamoto, Saeki, Matsui, Yoshino, *et al.* 2012). Comme mentionné *supra*, les caractéristiques histopathologiques comprennent un infiltrat lymphoplasmocytaire polyclonal dense avec prédominance de plasmocytes IgG4 positifs et de lymphocytes T CD4+, une fibrose de type «storiforme» et des phlébites obstructives (Chen *et al.* 2010; Smyrk 2011). Une légère éosinophilie des tissus peut être retrouvée.

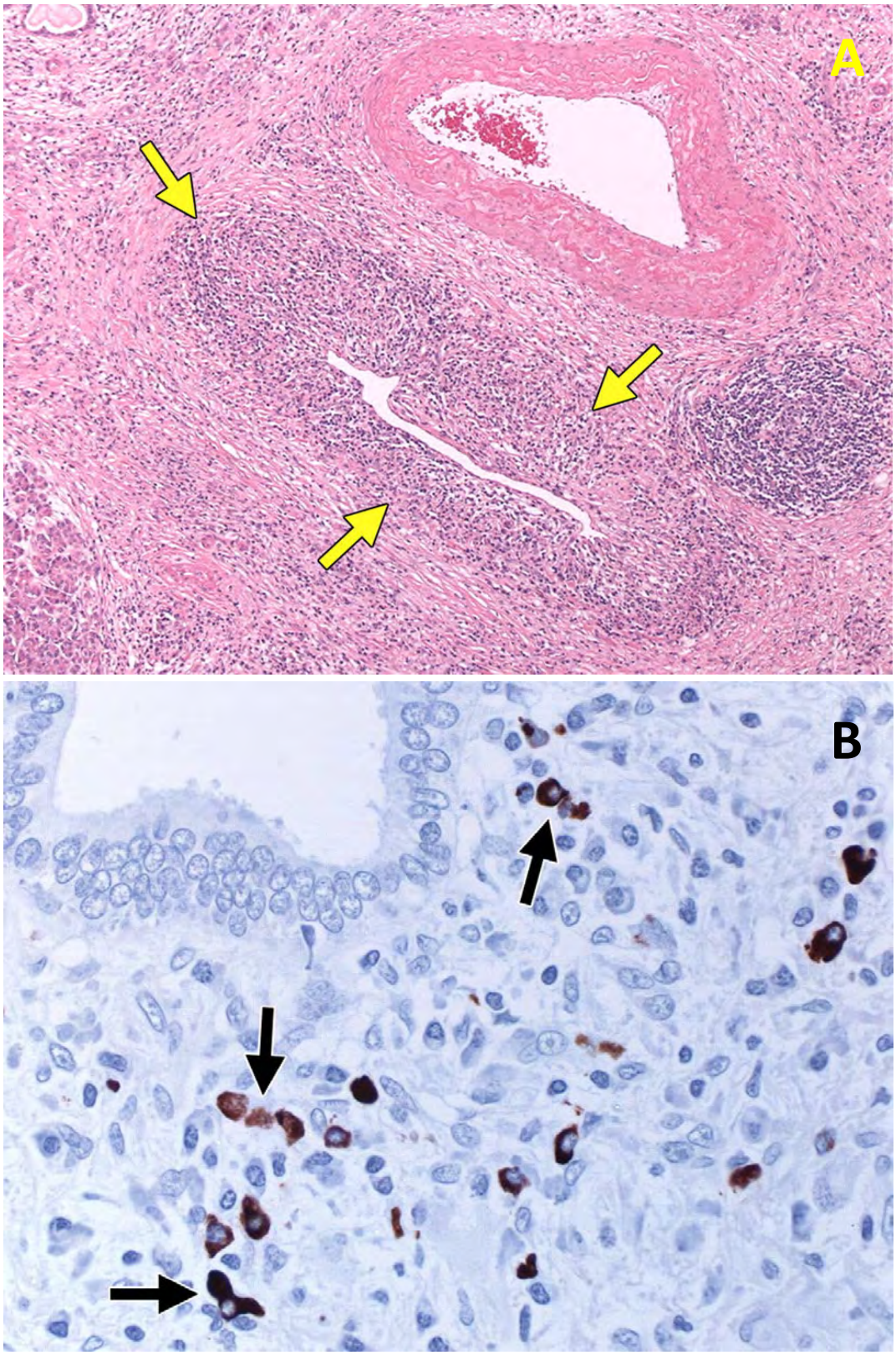


Figure 23 Coupe histologique de pancréas d'un patient atteint de PAI1. A- Infiltrat lymphoplasmocytaire dense avec une phlébite oblitérante (flèches jaunes) (coloration hématoxyline et éosine, x100) B- infiltrat abondant de plasmocytes IgG4 positifs autour du canal pancréatique (immunomarquage IgG4, x200) (Vlachou *et al.* 2011)

Tableau V Recommandations diagnostiques de 2011 pour la MAG4 (Umehara, Okazaki, Masaki, Kawano, Yamamoto, Saeki, Matsui, Yoshino, *et al.* 2012)

Critères diagnostiques de la Maladie Associée aux IgG4 *selon les recommandations publiées en 2012*		
1	Examen clinique	Hypertrophie localisée ou diffuse au sein d'un ou plusieurs organes classiquement atteints au cours de la MAG4
2	Biologie	Elévation des IgG4 sériques (≥ 1,35 g/L)
3	Histologie	a- Infiltration lymphoplasmocytaire polyclonale marquée + fibrose « storiforme » b- Infiltration par des plasmocytes IgG4+ : ratio IgG4+/IgG+ > 40% et > 10 plasmocytes par champ au fort grossissement
MAG4 définie : 1 + 2 +3 MAG4 probable : 1 + 3 MAG4 possible : 1 + 2		

Ces critères diagnostiques (Tableau V) sont accompagnés de points de vigilance, en particulier au niveau histologique, et concernent les principaux diagnostics différentiels de MAG4 (*cf. infra*).

Du 19 au 24 octobre 2018 se réunissait à Chicago le congrès annuel du collège américain de rhumatologie (*American College of Rheumatology* ou ACR). En avant-première ont été présentés les résultats d'une étude mondiale publiée depuis (Wallace *et al.* 2019). Ces auteurs ont identifiés quatre phénotypes de patients atteints de MAG4 servant de cadre pour identifier la pathologie. A partir de ces travaux, ces auteurs proposent d'établir de nouveaux critères de classification plus précis avec un système de points. Ces recommandations seront conjointes entre l'ACR et la ligue européenne contre les rhumatismes (*European League Against Rheumatism* ou EULAR). Bien qu'elles ne soient pas encore publiées au moment de la rédaction de ce mémoire, elles ont été diffusées par l'investigateur principal, Dr John Stone qui est aussi un acteur majeur de la recherche sur la MAG4 depuis de nombreuses années (Stone 2018).

Ces recommandations proposent de suivre un cheminement en 3 temps en commençant par identifier au moins un organe majeur atteint puis d'écarter les patients possédant au moins un critère d'exclusion et enfin d'attribuer les points en fonction des atteintes observées.

Dix organes ont été identifiés comme majeurs (Tableau VI). Au moins un de ces organes doit être atteint. Les patients ne respectant pas cette condition ne sont pas considérés comme ayant une MAG4.

Tableau VI Organes principalement atteints selon la classification ACR/EULAR 2018 de la MAG4.

Organes « majeurs » de MAG4
Pancréas
Canaux biliaires
Orbites oculaires
Glandes lacrymales
Glandes salivaires principales
Rétropéritoine
Reins
Aorte
Pachyméninges
Thyroïde (thyroïdite de Riedel mais pas la maladie de Hashimoto)

Vingt-et-un critères d'exclusion divisés en quatre catégories (clinique, biologie, imagerie, histologie) sont à considérer (Tableau VII). La présence d'un de ces critères exclut le patient. Ils comprennent les diagnostics établis de maladie de Castleman multicentrique, de maladie de Crohn, de rectocolite hémorragique (seulement en cas d'atteinte pancréato-biliaire pour les deux dernières), de thyroïdite de Hashimoto (seulement si thyroïde atteinte).

Tableau VII Critères d'exclusion selon la classification ACR/EULAR 2018 de la MAG4.

Critères d'exclusion de MAG4	
Exclusions cliniques	- Fièvre - Absence de réponse au traitement par corticoïdes
Exclusions biologiques	- Leucopénie et Thrombopénie - Hyperéosinophilie périphérique (> 3 G/L) - ANCA positifs (MPO ou PR3) - Anticorps anti-SSA/Ro ou Anticorps anti-SSB/La positifs - Positivité des autres anti-ENA (*Extractable Nuclear Antibody*) - Positivité des anticorps anti-ADN double brin - Présence de cryoglobulines - Autres anticorps spécifiques de maladies auto-immunes
Exclusions radiologiques	- Progression rapide à l'imagerie - Ostéosclérose (telle que dans la maladie d'Erdheim Chester) - Splénomégalie - Atteintes infectieuses et malignes, associées ou non
Exclusions histologiques	- Inflammation granulomateuse primaire - Vascularite nécrosante - Infiltrat malin - Infiltrat macrophagique/histiocytaire prédominant - Infiltrat neutrophile prédominant - Maladie de Castleman multicentrique - Nécrose importante - Pseudotumeurs inflammatoires

Les critères d'inclusion sont regroupés dans sept domaines. Le nombre de points associés sont présentés dans le Tableau VIII. La somme des points doit être supérieure ou égale à 19 pour que le patient soit considéré atteint de MAG4. Concernant le taux d'IgG4,

une différence importante doit être signalée. La valeur de 1,35 g/L n'est plus considérée, ce sont les bornes du laboratoire qui prévalent.

Tableau VIII Domaines, critères d'inclusion et nombre de points de cotation selon la classification ACR/EULAR 2018 de la MAG4.

Domaine	Critères	Points
Taux d'IgG4 sériques	Dans les limites des valeurs normales (N)	0
	N – 2N	3,7
	2N – 5N	6,1
	> 5N	10,8
Histopathologie et Immunomarquage	Biopsie non contributive	0
	Infiltrat lymphoplasmocytaire dense (ILD)	3,7
	ILD avec phlébite oblitérante	6,1
	ILD avec fibrose « storiforme »	13,3
Elargissement des glandes lacrymales et/ou salivaires	Une glande ou paire de glandes	5,9
	A partir de deux paires de glandes	13,8
Aorte thoracique et tronc	Epaississement péri-broncho-vasculaire et septal	3,8
	Aspect de bande de tissu mou paravertébral au niveau de la cage thoracique	9,8
Pancréas et voies biliaires	Elargissement pancréatique diffus (perte des lobulations)	8
	Précédent associé à l'aspect « *capsule-like rim* » anneau hypodense et/ou hypointense T2	10,5
	Atteinte du pancréas et de l'arbre biliaire	18,7
Rein	Hypocomplémentémie	5,8
	Epaississement du pelvis rénal, présence d'un tissu mou ou les deux	8,1
Rétropéritoine	Epaississement diffus de la paroi aortique abdominale	4,1
	Tissu mou circonférentiel ou antérolatéral autour de l'aorte infrarénale ou des artères iliaques	7,8

L'application de ces critères aux cohortes étudiées par Wallace *et al.* a montré une sensibilité de 85,5% et une spécificité de 99,2% (Wallace *et al.* 2019). Sans l'application des critères d'exclusion, la sensibilité est de 90% et la spécificité est de 88,5%.

5.6.3.1.4. Diagnostic différentiel de MAG4

Les diagnostics différentiels sont nombreux, ils dépendent de la sphère atteinte et de la présentation clinique.

Au niveau de la **sphère pancréato-hépatobiliaire**, les pathologies pouvant être confondues avec la MAG4 sont le cancer du pancréas, la cholangite sclérosante primitive et le cholangiocarcinome.

Faire la différence entre la PAI1 et le cancer du pancréas n'est pas toujours facile dans la mesure où dans les deux cas un teint ictérique asymptomatique peut être retrouvé et les IgG4 peuvent être augmentées (même si généralement moins augmentées dans la seconde condition) (Ghazale *et al.* 2007). L'imagerie permet bien souvent de différencier les deux entités cliniques. La PAI1 présente en tomodensitométrie un aspect en saucisse du pancréas

qui est tuméfié et délobulé ou bien un aspect « capsule-like rim » avec un anneau hypodense et/ou hypointense en T2, ces caractéristiques n'étant pas retrouvées dans le cancer du pancréas (Cao *et al.* 2015). Mais c'est bien la biopsie, en peropératoire ou obtenue par échographie endoscopique, qui est la plus performante pour exclure les deux diagnostiques l'un de l'autre.

La distinction entre la cholangite sclérosante primitive et celle liée à la MAG4 est importante car le pronostic n'est pas du tout le même. Une cholestase biologique et des restrictions au cholangiogramme ne sont pas discriminantes (Goodchild, Pereira, et Webster 2018). La présence simultanée d'une implication des canaux biliaires et du pancréas est plutôt en faveur de la PAI1, l'atteinte biliaire isolée étant très rare dans la MAG4. La biopsie, l'augmentation sérique des IgG4, les manifestations extrabiliaires et la réponse aux corticoïdes seront en faveur de la MAG4 (Ghazale *et al.* 2008; Takuma, Kamisawa, et Igarashi 2011). Une étude récente (Moon *et al.* 2017) a proposé un score composite pour faire la part des choses entre les deux formes de cholangite mais le recul est encore faible pour juger de la fiabilité de cet outil.

L'ictère obstructif, l'élargissement du pancréas et la lymphadénopathie sont des caractéristiques à la fois du cholangiocarcinome et de la cholangite sclérosante liée aux IgG4. Dans le cholangiocarcinome, le marqueur « cancer antigen 19-9 » (CA 19-9) est élevé, l'obstruction des canaux biliaires est complète en cholangiopancréatographie rétrograde endoscopique et la bilirubine sérique est plus élevée, comparativement à la cholangite sclérosante liée aux IgG4. Une corrélation négative entre le taux sérique d'IgG4 et le cholangiocarcinome serait également observée (Tabata *et al.* 2013).

Pour la **sphère rétropéritonéale et aortique**, les atteintes liées à la MAG4 doivent être dissociées des autres causes de fibroses et des troubles infectieux et inflammatoires pouvant mimer la MAG4.

Les caractéristiques histopathologiques et cliniques permettent souvent de bien différencier une forme de MAG4. La biopsie répond aux critères (*cf. supra*) et des atteintes extrapéritonéales sont présentes chez plus de la moitié des patients (Lian, Wang, et Tian 2016). L'extension d'une périaortite infrarénale impliquant les vaisseaux iliaques est un motif d'imagerie fortement suggestif de fibrose rétropéritonéale liée aux IgG4, comme évoqué *supra* (Khosroshahi *et al.* 2013; Stone 2011; Zen, Onodera, *et al.* 2009).

Les étiologies des aortites et périaortites sont nombreuses (non infectieuses et infectieuses). Si la cause infectieuse est d'origine bactérienne, une fièvre sera observée, ce qui exclut une MAG4. Les formes malignes, telles que les présentations atypiques de lymphome, seront également exclues (Palmisano et Vaglio 2009; Stone *et al.* 2015). D'un point de vue épidémiologique, les patients présentant une aortite à MAG4 sont significativement plus âgés que ceux atteints d'artérite de Takayasu ou de maladie de Behçet (Koo *et al.* 2014). Les anévrismes de l'aorte abdominale liés à la MAG4 présentent des taux

d'IgG4 et d'IgE sériques plus importants (Kasashima et Zen 2011). La biopsie est l'élément le plus discriminant. Une inflammation granulomateuse, la présence de granulomes épithélioïdes ou de cellules géantes multinucléées sont en effet des arguments allant à l'encontre d'une MAG4 (Weindorf et Frederiksen 2017).

Les **atteintes de la tête et du cou** de MAG4 sont essentiellement à différencier du syndrome de Goujerot-Sjögren (SGS) et des pseudotumeurs inflammatoires de l'orbite.

Cliniquement, un patient atteint de SGS ou de MAG4 peut présenter un gonflement important des glandes salivaires principales (parotide, sous-mandibulaire) ou des glandes lacrymales. La comparaison plus en détails de ces deux maladies permet de constater une prédominance féminine dans le SGS, des IgG4 sériques normales et une biopsie des glandes salivaires sans les caractéristiques de MAG4. Dans la sialadénite liée aux IgG4, le syndrome sec, les rhinites allergiques et l'asthme sont moins présents, le bilan auto-immun ne retrouve pas d'auto-anticorps (notamment anti-nucléaires, anti-SSA et anti-SSB) (Fragoulis, Zampeli, et Moutsopoulos 2017).

La MAG4 apparaît de plus en plus comme une étiologie majeure des inflammations orbitales, suite à l'atteinte des glandes lacrymales (*cf. supra*). En fonction des critères diagnostiques utilisés avant 2015, 5 à 25% des inflammations orbitales étiquetées non granulomateuses idiopathiques seraient en réalité des MAG4 (Andrew *et al.* 2015). Chez l'enfant, l'inflammation orbitale semble être une manifestation commune de la MAG4 (Smerla *et al.* 2018). La biopsie est le meilleur examen pour affirmer les atteintes liées à la MAG4.

D'**autres atteintes d'organes ou multisystémiques** peuvent ressembler à la MAG4.

L'atteinte pulmonaire de la MAG4 est assez semblable cliniquement et radiologiquement à la sarcoïdose, à certaines néoplasies et à la pneumopathie interstitielle diffuse associée aux maladies auto-immunes. C'est l'association à des atteintes non pulmonaires et une biopsie évocatrice qui orientera le diagnostic vers la MAG4. Toutefois, l'aspect de fibrose « storiforme » n'est pas toujours présent au niveau du tissu pulmonaire (Bledsoe *et al.* 2018; Corcoran *et al.* 2017). Dans la MAG4 pulmonaire, des agrégats de polynucléaires neutrophiles peuvent être retrouvés (Corcoran *et al.* 2017), ce qui n'est pas le cas dans les autres tissus. L'extension de l'infiltrat fibroinflammatoire dans la région périlymphatique est également caractéristique de la MAG4 (Bledsoe *et al.* 2018).

Une lymphadénopathie généralisée peut évoquer une sarcoïdose, une maladie de Castleman multicentrique, une infection (la tuberculose par exemple), un lymphome ou une autre tumeur maligne. La différence en faveur d'une MAG4 se fait par un élargissement plus modéré des ganglions lymphatiques, des distinctions histopathologiques à la biopsie et la réponse aux corticoïdes (Chen *et al.* 2010).

Concernant le goître thyroïdien, il y a des formes de thyroïdites qui peuvent apparaître similaires à la thyroïdite de Riedel comme celle de Hashimoto et ses variants (post-partum, silencieuse, avec fibrose) (Falhammar *et al.* 2018; Li *et al.* 2009; Stan *et al.* 2017). Les anticorps anti-thyroperoxydase (anti-TPO) excluent la MAG4, la forme variante avec fibrose serait une forme précoce de thyroïdite de Riedel (Stan *et al.* 2017).

Au niveau rénal, les néphrites interstitielles pouvant mimer la MAG4 incluent celles liées aux médicaments, les pyélonéphrites chroniques, la maladie de Castleman multicentrique et les néphrites interstitielles liées aux autres maladies auto-immunes (essentiellement SGS et granulomatose avec polyangéite). La biopsie est déterminante puisque dans la néphrite interstitielle liée aux IgG4, sont retrouvés d'abondants plasmocytes IgG4+ et la fibrose « storiforme », souvent associés à des dépôts de complexes immuns au niveau de la membrane basale tubulaire. En revanche, l'analyse de la biopsie ne retrouve pas d'inflammation granulomateuse, d'infiltrats de polynucléaires neutrophiles et de caryorexie (Zhang et Cornell 2017).

La distinction doit être faite avec la MAG4 qui peut présenter des atteintes mimant les vascularites à anticorps anti-cytoplasme de polynucléaires neutrophiles (ANCA). Les reins et les poumons sont particulièrement affectés par les vascularites à ANCA alors que ce ne sont pas les atteintes les plus fréquentes de la MAG4. De plus dans la MAG4, la protéine C-réactive (CRP) n'est généralement pas augmentée (hors fibrose rétropéritonéale) et il n'y a pas de fièvre (Kawashima *et al.* 2019). Les caractères histopathologiques peuvent contribuer à dissocier les deux entités, associés à la présence d'ANCA (de type myéloperoxydase (MPO) ou protéinase 3 (PR3)). L'association à une pachyméningite, une pseudotumeur orbitale ou une périaortite chronique sont en faveur d'une MAG4 (Danlos *et al.* 2017; Della-Torre *et al.* 2016).

5.6.4. Traitement et pronostic

5.6.4.1. Evaluation prétraitement

Une fois le diagnostic de MAG4 posé, un bilan d'extension devrait être réalisé avant de débuter un traitement, compte tenu de la multitude d'organes ou de tissus pouvant être atteints. Il comprendra des examens d'imagerie par scanner de la poitrine, de l'abdomen, du pelvis et possiblement les orbites oculaires si une atteinte est suspectée. Concernant les examens de biologie médicale, il n'y a pas de recommandation concernant des analyses à effectuer dans le cadre du bilan d'extension ou en prétraitement.

5.6.4.2. Prise en charge thérapeutique

Le traitement optimal de la MAG4 n'a pas encore été établi. Le consensus international parmi les experts indique les points suivants (Khosroshahi *et al.* 2015) :

- Tous les patients avec une MAG4 active et symptomatique doivent être traités, parfois de façon urgente. Certains patients avec une MAG4 asymptomatique doivent aussi être traités
- Les glucocorticoïdes représentent la première ligne de traitement pour induire une rémission chez tous les patients avec une MAG4 active non traitée, sauf en cas de contre-indications formelles. En pratique, le traitement initial recommandé est la **prednisone à la posologie de 0,6 mg/kg/jour**
- Après une thérapie d'induction réussie, certains patients bénéficient d'une thérapie d'entretien à base de corticoïdes à faible dose (2,5 – 5 mg/jour)
- La reprise des glucocorticoïdes est indiquée pour les patients en rechute après une première induction de rémission réussie. A la suite de la rechute, l'adjonction d'un agent épargnant les glucocorticoïdes (immunosuppresseur) doit être considérée pour la maintenance de rémission

Un des points n'ayant pas fait consensus est la combinaison des glucocorticoïdes avec un immunosuppresseur dès l'initiation du traitement visant à limiter l'échec d'une monothérapie par glucocorticoïdes et à réduire la toxicité de ces derniers sur le long terme. Les immunosuppresseurs ayant fait l'objet d'essais ou étant utilisés dans certains cas sont le rituximab (RTX), l'azathioprine (AZA), le mycophénolate mofétil (MMF), le 6-mercaptopurine (6-MP), le méthotrexate, le tacrolimus et le cyclophosphamide. Cette divergence de point de vue s'explique en partie par des pratiques différentes entre les différents pays.

5.6.4.3. Réponse aux traitements

Dans une large cohorte de 215 patients (Wang *et al.* 2018) à l'initiation du traitement de leur MAG4, la rémission n'a pas été atteinte pour 12% des patients (26/215). La définition de rémission donnée par les auteurs était : (1) amélioration du score de l'index de réponse au traitement pour la MAG4 supérieure ou égale à 50% (présenté *infra*); (2) décroissance des glucocorticoïdes à une posologie d'entretien (prednisone ≤10 mg/jour); et (3) absence de rechute lors de la décroissance des glucocorticoïdes (dans les 6 mois suivant l'initiation du traitement). Cet échec semblait plus fréquent chez les patients ayant reçu des glucocorticoïdes en monothérapie car cela représentait 21% (16/77), contre 7% (10/138) chez les patients ayant reçu des glucocorticoïdes associés à un agent immunosuppresseur. Les traitements n'ayant pas été attribués aléatoirement, l'efficacité relative de ces deux approches n'a pas pu être comparée (Wang *et al.* 2018).

La plupart des patients répondent aux glucocorticoïdes dès les premières semaines de traitement, avec une amélioration de la symptomatologie, une diminution de la taille des organes ou des masses observées, une amélioration fonctionnelle de l'organe et une diminution du taux sérique d'IgG4. Cependant, certains patients répondent au bout de quelques mois, un certain nombre de patients rechutent et d'autres ne répondent pas bien

voire pas du tout dans de très rares cas. Les patients ne répondant pas du tout aux glucocorticoïdes ne sont pas bien définis et n'étaient peut-être pas atteints de MAG4 (Carruthers *et al.* 2012). Un index de réponse pour la MAG4 a été développé à partir de données cliniques. Cet index a été utilisé en recherche clinique et dans des études de recherche de biomarqueurs (Figure 24) (Carruthers *et al.* 2012). Son utilisation a été validée, montrant une corrélation significative entre l'index de réponse et l'évaluation clinique des patients par les médecins (*Physician's Global Assessment*). Suite au traitement, une amélioration significative du score de l'index de réponse a été observée (Wallace *et al.* 2018).

Une réponse à la prednisone est constatée sous deux à quatre semaines, souvent encore plus rapidement. Quand la réponse significative est cliniquement observable, une décroissance de la prednisone peut être initiée. Elle doit être opérée sur une période supérieure à deux mois, en fonction de la tolérance, et en ayant pour but final de sevrer le traitement.

Dans les cas de résistances au traitement initial (posologie supérieure ou égale à 40 mg/jour), de corticodépendance (décroissance inférieure à 5 mg/jour impossible sans effets indésirables liés à une prise chronique) ou de contre-indication formelle, le rituximab peut être utilisé (1 gramme par voie intraveineuse (IV) tous les 15 jours dans la limite de deux doses). Des études cas-témoins ont montré une efficacité du rituximab (Khosroshahi *et al.* 2010, 2012; Khosroshahi et Stone 2011b). Une étude a par ailleurs montré l'efficacité du rituximab dès l'initiation du traitement et en phase d'entretien (Ebbo, Grados, *et al.* 2017). Cette étude a également montré la survenue de rechutes à l'arrêt du traitement (Ebbo, Grados, *et al.* 2017).

En alternative au rituximab, l'azathioprine (2 mg/kg/jour) ou le mycophénolate mofétil (jusqu'à 2,5 g/jour en fonction de la tolérance) semblent des molécules de choix comme agents d'épargne aux corticoïdes. Ces médicaments sont toutefois en cours d'évaluation pour la MAG4.

IgG4-RD responder index

Date form completed: (e.g., 7 / July / 2050)

Case number: _____

Scoring rules

Scoring refers to manifestations of disease activity present in the last 28 days

Scoring: 0 Normal or resolved
1 Improved
2 Persistent (unchanged from previous visit; still active)
3 New / recurrence
4 Worsened despite treatment

Definitions

Organ/site score: the overall level of IgG4-RD activity within a specific organ system
Symptomatic: is the disease manifestation in a particular organ system symptomatic? (Y = yes; N = no)
Urgent disease: disease that requires treatment immediately to prevent serious organ dysfunction (Y = yes; N = no)
(presence of **urgent disease** within an organ leads to **doubling** of that organ system score)
Damage: organ dysfunction that has occurred as a result of IgG4-RD and is considered permanent (Y = yes; N = no)

	Activity			Damage
Organ/site	Organ/site score (0-4)	Symptomatic (Yes/No)	Urgent (Yes/No)	Present (Yes/No)
Pachymeninges				
Pituitary gland				
Orbits and lacrimal glands				
Salivary glands				
Thyroid				
Lymph nodes				
Lungs				
Aorta and large blood vessels				
Retroperitoneum, mediastinum, and mesentery				
Pancreas				
Bile duct and liver				
Kidney				
Skin				
Other sclerosis/mass formation				

Descriptor	Level mg/dl	Score
Serum IgG4 concentration		

Total activity score

Organ/sites (×2 if urgent) + serum IgG4 score: _____

Total number of urgent organs: _____

Total number of damaged organs: _____

Steroid dose at the time of assessment (prednisone equivalent):
____ mg/day
Cumulative steroid dose in the past 28 days:
____ mg prednisone equivalent

Figure 24 Feuille d'évaluation de l'Index de réponse pour la MAG4 pour relever l'activité de la maladie lors des consultations de suivi (Carruthers *et al.* 2012).

5.6.4.4. Pronostic

En l'absence de traitement, l'évolution naturelle de la maladie comprend : cirrhose hépatique, hypertension portale, fibrose rétropéritonéale, complications liées à un anévrisme aortique dont une dissection, obstruction biliaire, diabète (Ghazale *et al.* 2008; Khosroshahi et Stone 2011b; Stone *et al.* 2010; Zen, Onodera, *et al.* 2009). Ces atteintes constituent les principales causes de morbidité et mortalité. Des symptômes généraux sont également retrouvés, comme une fatigue et une perte de poids pouvant être significative sur plusieurs mois (10 à 15 kg). Cette perte de poids est surtout liée à l'atteinte pancréatique.

Une nette amélioration est observée avec le traitement, mais les rechutes sont fréquentes à l'arrêt (Shirakashi *et al.* 2018). Ces rechutes représentent 30 à 50% des patients selon les études (Kamisawa *et al.* 2009; Shirakashi *et al.* 2018; Yamamoto *et al.* 2015). Le délai d'apparition médian des rechutes est de 38 mois (Yamamoto *et al.* 2012) après l'initiation du traitement par corticoïdes. Le traitement est alors arrêté ou à faibles doses (5 mg/jour). D'autres tissus ou organes peuvent être atteints avec le temps, parfois malgré un traitement efficace. Le pronostic à long-terme n'est pas encore connu.

5.7. Déficit en IgG4

A l'instar des augmentations d'IgG4 ou des maladies présentées *supra*, il convient de s'intéresser aux diminutions de ces IgG4.

Les IgG4 sont présentes dans la circulation à de très faibles taux en situation normale, représentant entre 4 et 5% des IgG totales (Aalberse *et al.* 2009). Un déficit en cette sous-classe d'IgG peut être néanmoins observé. Il a été montré comme parfois associé au déficit en IgG2 ou en IgA (Bonilla *et al.* 2015). Cliniquement, ce déficit serait associé à des infections respiratoires récurrentes et une bronchectasie (Aghamohammadi *et al.* 2008). Toutefois, il n'existe que peu de données sur le sujet.

6. Anticorps monoclonaux thérapeutiques de type IgG4

Nous avons vu que les IgG4 possédaient des caractéristiques structurales propres. La flexibilité de la molécule liée aux résidus S228 de la région charnière et R409 du domaine CH3 favorise les échanges de demi-molécules. Des échanges ont été observés avec des anticorps monoclonaux thérapeutiques de nature IgG4, notamment le natalizumab (Labrijn *et al.* 2009). De plus, les domaines CH3 ont la capacité de médier une interaction Fc-Fc. Cette capacité d'interaction et d'agrégation sous-tend de potentielles interférences avec ces anticorps thérapeutiques. Nous présentons dans ce paragraphe, les anticorps monoclonaux thérapeutiques de type IgG4 et hybrides (comprenant une part d'IgG4) qui peuvent interagir avec les IgG4 sériques et interférer dans leur caractérisation ou dosage.

L'utilisation de sérum contenant des anticorps polyclonaux provenant d'animaux immunisés avec des toxines bactériennes a signé le début de la mise en application des thérapies basées sur les anticorps à la fin du XIXème siècle. Behring est d'ailleurs le lauréat du premier Prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 1901 pour ses découvertes en lien avec la thérapie sérique contre la diphtérie (Kaufmann 2017). Les différentes avancées, notamment en biologie moléculaire, ont conduit au développement de la technique des hybridomes en 1975 permettant d'obtenir des anticorps monoclonaux en très grande quantité et à faible coût (Köhler et Milstein 1975). Le premier anticorps monoclonal utilisé en thérapeutique, muromonab, dirigé contre le récepteur CD3 des lymphocytes T pour le contrôle du rejet de greffe, a été approuvé en 1986 par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (*Food and Drug Administration* ou FDA) et l'agence européenne des médicaments (*European Medicines Agency* ou EMA) (Norman *et al.* 1987). Au moment de la rédaction de ce manuscrit, soixante-dix-huit anticorps monoclonaux ou protéines de fusion sont disponibles sur le marché (ACTIP, 2017, The Antibody Society, 2019). Il s'agit d'IgG d'isotype 1, 2, 4 ou hybrides 2/4. Les IgG1 sont l'isotype privilégié pour le développement, représentant ainsi 68% des molécules utilisées en clinique, suivies par les IgG4 pour 17% (14/78). Les hybrides IgG2/4 comptent pour 3% (2/78) du total. Les caractéristiques des 14 anticorps monoclonaux thérapeutiques de nature IgG4 sont résumées dans le Tableau IX. Leurs mécanismes d'action et leurs posologies sont détaillés pour chacun *infra*.

Alors que le natalizumab est sujet au FAE de par l'absence de modification de sa structure, le gemtuzumab et l'inotuzumab ont une région charnière modifiée S228P pour prévenir le FAE *(Labrijn et al.* 2009). Certaines molécules présentent la substitution R409K évoquée *supra* (paragraphe 3.6). Ces deux substitutions permettent de stabiliser les molécules IgG4. Leur découverte, associée à la potentialité des IgG4 à échanger des demi-molécules dont les conséquences sur l'efficacité des thérapeutiques n'étaient pas connues,

ont conduit l'industrie pharmaceutique à les intégrer dans la formulation des IgG4 thérapeutiques (Herbener *et al.* 2018). Toutefois, tous les anticorps thérapeutiques ne sont pas étudiés et leurs structures exactes ne sont pas publiques. Concernant l'eculizumab et le ravulizumab, leur région charnière étant de nature IgG2, ils ne sont pas soumis au FAE. L'emicizumab présente également une région charnière stabilisée pour maintenir sa bispécificité (Kitazawa *et al.* 2017; Mahlangu *et al.* 2018).

Tableau IX Revue des Ac monoclonaux thérapeutiques de type IgG4 et hybrides comprenant une part d'IgG4, d'après ACTIP, 2017, *The Antibody Society*, 2019 et les « Résumés caractéristiques du produit » fournis par l'EMA ou la FDA. DCI = dénomination commune internationale, Ceq = concentration circulante à l'équilibre, Cmax = concentration circulante maximale

DCI	Nom commercial	Laboratoire	Cible	Format	Indications initiales	Posologie maximale	Ceq (Cmax) circulante	Première approbation EMA	Première approbation FDA	Disponibilité au CHU de Bordeaux
Natalizumab	TYSABRI	Biogen, Netherlands BV	α intégrine	Humanisé, IgG4κ	Sclérose en plaques	300 mg IV toutes les 4 semaines	23-29 mg/L (110 mg/L ± 52)	2006	2004	oui
Eculizumab	SOLIRIS	Alexion, Europe SAS	C5	Humanisé, IgG2/4κ	Hémoglobinurie paroxystique nocturne	900 mg IV toutes les semaines	50-400 mg/L (700-1100 mg/L)	2007	2007	oui
Nivolumab	OPDIVO	Bristol-Myers-Squibb	PD1	Humain, IgG4κ	Mélanome, cancer pulmonaire non à petites cellules	480 mg IV toutes les 4 semaines	86,6 mg/L (189-232 mg/L)	2015	2014	oui
Pembrolizumab	KEYTRUDA	MSD, France	PD1	Humanisé, IgG4κ	Mélanome	200 mg IV toutes les 3 semaines	22-29 mg/L (218-331 mg/L)	2015	2014	oui
Ixekizumab	TALTZ	Eli Lilly and Company	IL-17a	Humanisé, IgG4κ	Psoriasis	80 mg SC toutes les 4 semaines	14,6-21,5 mg/L (28-30,7 mg/L)	2016	2016	oui
Reslizumab	CINQAERO CINQAIR	TEVA, BV	IL-5	Humanisé, IgG4κ	Asthme	3 mg/kg IV toutes les 4 semaines	1,35-28 mg/L (78-96 mg/L)	2016	2016	non
Inotuzumab ozogamicin	BESPONSA	Pfizer	CD22	Humanisé, IgG4κ, conjuguée	Leucémie aiguë lymphoblastique	1,8 mg/m^2/cycle IV	0,070-0,351 mg/L (0,472-0,673 mg/L)	2017	2017	oui
Dupilumab	DUPIXENT	Sanofi	IL-4R α	Humain, IgG4κ	Dermatite atopique	300 mg SC toutes les 2 semaines	60,3-79,9 mg/L (95,4-121,3 mg/L)	2017	2017	oui
Emicizumab	HEMLIBRA	Roche	Facteurs IXa, X	Humanisé, IgG4κ, bispécifique	Hémophilie A	6 mg/kg SC toutes les 4 semaines	66,8 mg/L (84,5 mg/L)	2018	2017	oui
Gemtuzumab ozogamicin	MYLOTARG	Pfizer	CD33	Humanisé, IgG4κ, conjuguée	Leucémie aiguë myéloïde	3 mg/m^2 IV à J1, J4, J7 du cycle	0,38-0,63 mg/L (1,63-1,95 mg/L)	2018	2017; 2000 (retrait)	oui
Galcanezumab	EMGALITY	Eli Lilly and Company	CGRP	Humanisé, IgG4κ	Prophylaxie de la migraine	120 mg SC tous les mois	28 mg/L (46 mg/L)	2018	2018	non
Ibalizumab, ibalizumab-uiyk	TROGARZO	TaiMed biologics and Theratechnologies	CD4	Humanisé, IgG4κ	Infection au VIH	800 mg IV toutes les 2 semaines	-	Attente de décision	2018	oui (sous ATU)
Ravulizumab (ALXN1210)	ULTOMIRIS	Alexion Pharmaceuticals, Inc	C5	Humanisé, IgG2/4κ	Hémoglobinurie paroxystique nocturne	-	-	Attente de décision	2018	non
Leronlimab	(en instance)	CytoDyn	CCR5	Humanisé, IgG4κ	Infection au VIH	-	-	En revue	En revue	non

6.1. Natalizumab

Le natalizumab est un anticorps IgG4κ recombinant humanisé. Il se lie à une intégrine *α4β1-integrin* (*very late antigen 4* ou VLA-4) et bloque ainsi son interaction avec VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule*-1 appelé également cluster de différentiation 106 ou CD106) (Figure 25).

Les cellules endothéliales de la lumière des vaisseaux sanguins expriment la molécule d'adhésion VCAM-1. La reconnaissance de VLA-4 par VCAM-1 est requise pour la diapédèse leucocytaire à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour atteindre le système nerveux central (Burkly *et al.* 1991; Lobb et Hemler 1994). Dans la sclérose en plaques (SEP), les lésions apparaitraient lorsque les lymphocytes T activés traversent la BHE *via* le complexe VCAM-1/VLA-4. Dans les conditions normales, VCAM-1 n'est pas exprimée dans le parenchyme cérébral mais, en présence de cytokines pro-inflammatoires, cette expression est stimulée à la surface les cellules endothéliales et probablement à la surface des cellules gliales proches des sites inflammatoires (Osborn *et al.* 1989). Le natalizumab inhibe le recrutement secondaire des lymphocytes dans les tissus inflammatoires, diminuant la formation ou l'extension des lésions de SEP (Noseworthy et Kirkpatrick 2005).

Le natalizumab TYSABRI est indiqué en monothérapie comme traitement de fond chez les adultes présentant des formes très actives de SEP rémittente-récurrente. Le natalizumab 300 mg est administré en perfusion IV une fois toutes les 4 semaines. Les concentrations sériques maximales moyennes sont de 110 µg/ml ± 52. Les concentrations minimales moyennes obtenues à l'équilibre au cours de la période de traitement étaient comprises entre 23 et 29 µg/ml. Le délai prévu pour atteindre l'équilibre était d'environ 36 semaines (Biogen Idec, Inc. 2006).

6.1. Eculizumab et Ravulizumab

L'eculizumab et le ravulizumab sont des anticorps monoclonaux humanisés hybrides IgG2/4κ. L'isotype IgG2 humain ne lie pas les FcγR et l'IgG4 n'active pas la cascade du complément. Cette molécule est composée du CH1 et la région charnière de l'IgG2 humaine fusionnés avec les régions CH2 et CH3 de l'IgG4 humaine (Rother *et al.* 2007; Herlitz *et al.* 2012).

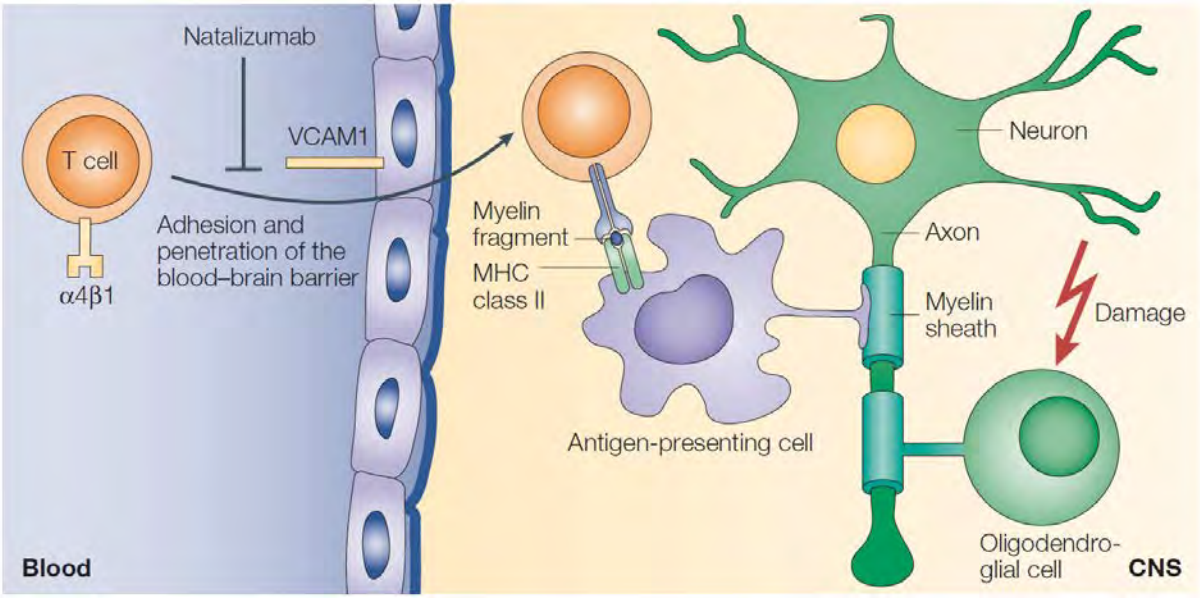


Figure 25 Schéma simplifié de la pathogénèse de la sclérose en plaques avec place du natalizumab (Noseworthy et Kirkpatrick 2005). MHC : major histocompatibility complex ; VCAM1 : vascular cell adhesion molecule-1 ; CNS : central nervous system

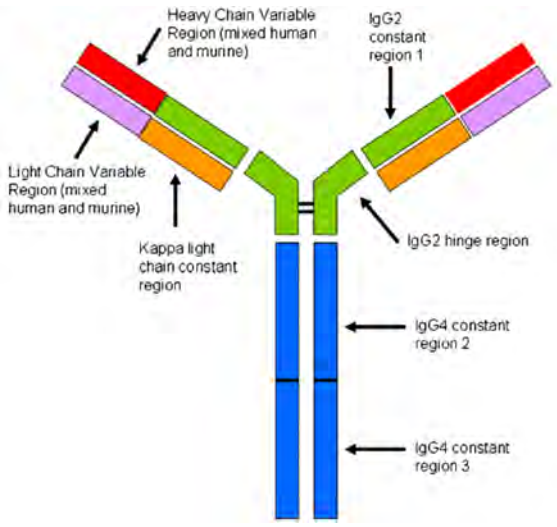


Figure 26 Caractéristiques structurales de l'eculizumab et du ravulizumab (Herlitz *et al.* 2012).

L'eculizumab et le ravulizumab sont des inhibiteurs de la voie terminale du complément qui se lient de manière spécifique à la protéine C5 du complément avec une affinité élevée, inhibant ainsi son clivage en C5a et C5b par la C5 convertase. Ils empêchent *de facto* la formation du complexe d'attaque membranaire composé de protéines C5b, C6, C7, C8, C9. Ainsi l'hémolyse induite par l'amplification du système du complément reste limitée.

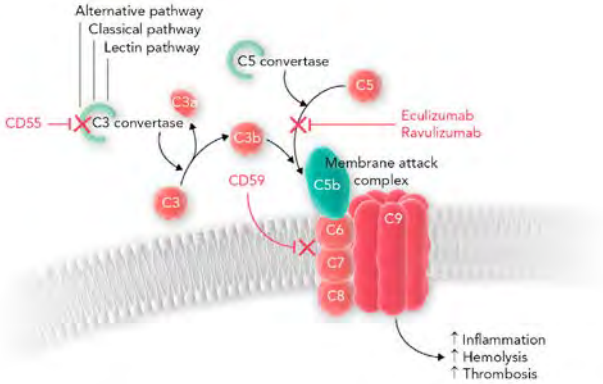


Figure 27 Régulation du complément et rôle de l'eculizumab et du ravulizumab (Connell 2019).

L'eculizumab est indiqué chez l'adulte et l'enfant pour le traitement de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) et le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHU atypique), pathologies liées à une dérégulation de la voie alterne du complément. Chez l'adulte, il y a en plus une indication pour le traitement de la myasthénie acquise généralisée réfractaire chez les patients présentant des anticorps anti-RAC.

L'eculizumab SOLIRIS 300 mg est administré en perfusion intraveineuse de 25 à 45 minutes chaque semaine ou toutes les deux à trois semaines à la posologie de 300 à 1200 mg en fonction de l'indication, de l'âge et de la phase du traitement (initiale ou d'entretien). Les concentrations maximales observées chez des patients correctement traités pour un SHU atypique (où les posologies sont les plus élevées d'après les recommandations) allaient jusqu'à 700 µg/mL chez l'adulte et 1100 µg/mL chez l'enfant (Wijnsma *et al.* 2018).

Le ravulizumab devrait obtenir en premier lieu l'autorisation de mise sur le marché pour l'HPN s'il venait à être accepté par l'EMA compte-tenu des résultats des essais cliniques de Phase 3 (Röth *et al.* 2018). Des essais sont en cours pour les autres indications.

Le ravulizumab ULTOMIRIS, de par les substitutions d'acides aminés présenterait une demi-vie nettement améliorée, permettant d'augmenter l'intervalle entre deux injections. (Sheridan *et al.* 2018).

6.2. Nivolumab et Pembrolizumab

Le nivolumab et le pembrolizumab sont des IgG4κ monoclonales qui se lient au récepteur PD-1 (*program death-1*), une molécule du checkpoint immunologique, qui est exprimée au cours des stimulations antigéniques sur les lymphocytes T CD4+ et CD8+ anergiques (Keir, Francisco, et Sharpe 2007). Ces anticorps thérapeutiques bloquent l'interaction de PD-1 avec ses deux ligands connus PDL-1 et PDL-2 présents sur les cellules tumorales, ainsi que sur les cellules dendritiques. L'interaction PD-1/PDL-1 envoie des signaux répresseurs au lymphocyte T qui devient incapable de contrôler l'expansion des cellules tumorales (Iwai *et al.* 2002). Le nivolumab et le pembrolizumab restaurent ainsi l'activité antitumorale naturelle des lymphocytes T.

Le nivolumab et le pembrolizumab sont indiqués en monothérapie dans le mélanome, le cancer bronchique non à petites cellules, le carcinome à cellules rénales, le lymphome de Hodgkin, le cancer épidermoïde de la tête et du cou, le carcinome urothélial. Leur association avec l'ipilimumab (anticorps anti-CTLA4 (*cytotoxic T lymphocyte antigen 4*)) est possible dans le mélanome.

En monothérapie, la dose recommandée de nivolumab OPDIVO est soit de 240 mg toutes les 2 semaines, soit de 480 mg toutes les 4 semaines selon l'indication. L'administration se fait en perfusion IV. La pharmacocinétique de nivolumab est linéaire pour des posologies allant de 0,1 à 10 mg/kg. L'exposition moyenne à l'état d'équilibre à la dose de 3 mg/kg de nivolumab toutes les 2 semaines est de 86,6 µg/mL (Lee *et al.* 2018).

En monothérapie, la dose recommandée de pembrolizumab KEYTRUDA est soit de 200mg toutes les 3 semaines, soit de 400 mg toutes les 6 semaines, administrée en perfusion intraveineuse pendant 30 minutes. La concentration minimale (Cmin) médiane à l'état d'équilibre était de 22,8 µg/mL avec un schéma posologique de 2 mg/kg toutes les trois semaines.

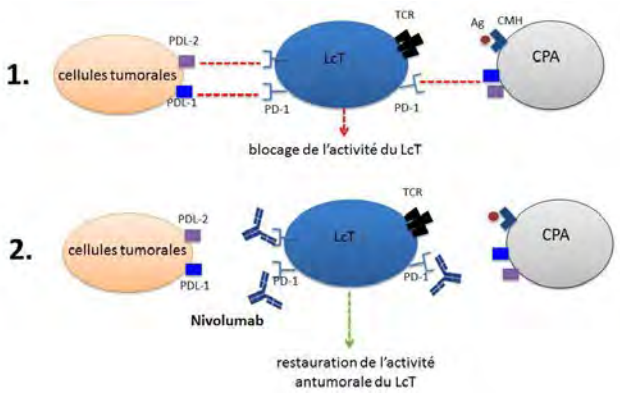


Figure 28 Mécanisme d'action du nivolumab. Mécanisme similaire pour le pembrolizumab, (Service d'immunologie, Faculté de Pharmacie de Lille 2018a)

6.3. Ixekizumab

L'ixekizumab est un anticorps IgG4κ recombinant humanisé. Il se lie spécifiquement à l'interleukine 17A (IL-17A). Cette cytokine est l'un des 6 membres de la famille des IL-17 (A à F) intervenant au niveau : des défenses naturelles de l'hôte, de la migration et de l'activation des polynucléaires neutrophiles, des processus inflammatoires et des pathologies auto-immunes (Toussirot 2018). Les IL-17 peuvent former des dimères entre elles. Parce que l'IL-17A et l'IL-17F présentent 50% d'homologie, l'IL-17A peut former des dimères avec l'IL-17F (formant un hétérodimère IL-17A/IL-17F) ou bien avec une autre IL-17A (formant un homodimère IL-17A/IL-17A). Ces dimères représentent les formes actives circulantes. Ces cytokines sont produites par les lymphocytes T helper 17 (Th17) qui sont très présents au niveau des lésions psoriasiques notamment. La liaison de l'IL-17A aux kératinocytes dans cet environnement conduit à la libération d'autres médiateurs pro-inflammatoires et au recrutement d'autres lymphocytes Th17, de polynucléaires neutrophiles et de cellules dendritiques. Par fixation à l'IL-17A, l'ixekuzimab empêche la liaison de l'IL-17A à son récepteur, inhibant ainsi les effets pro-inflammatoires associés (Figure 29).

L'ixekizumab est indiqué dans le traitement du psoriasis en plaques modéré à sévère chez l'adulte qui nécessite un traitement systémique, seul ou en association avec le méthotrexate Il est également indiqué dans le traitement du rhumatisme psoriasique actif chez les patients adultes qui ont présentés une réponse inadéquate ou une intolérance à un ou plusieurs traitements de fond.

La dose recommandée est de 160 mg en injection sous-cutanée, suivie d'une dose d'entretien de 80 mg toutes les 4 semaines.

L'état d'équilibre serait atteint au bout de 10 semaines environ. L'estimation de la concentration moyenne à l'équilibre est de 1,35-28 mg/L et la Cmax moyenne de 78-96 mg/L.

6.1. Reslizumab

Le reslizumab est un anticorps IgG4κ humanisé dirigé contre l'interleukine 5 (IL-5) humaine. L'IL-5 permet le recrutement et l'activation des polynucléaires éosinophiles (PNE). Le reslizumab se lie spécifiquement à l'IL-5 et interfère avec la liaison de l'IL-5 à son récepteur de surface cellulaire.

Au cours de l'asthme, les PNE activés par l'IL-5, endommagent la muqueuse bronchique. Leur dégranulation crée une hyperréactivité de la muqueuse, responsable des crises d'asthme. Le reslizumab limite le recrutement des PNE dans les poumons et par conséquent la gravité des crises d'asthme (Farne *et al.* 2017).

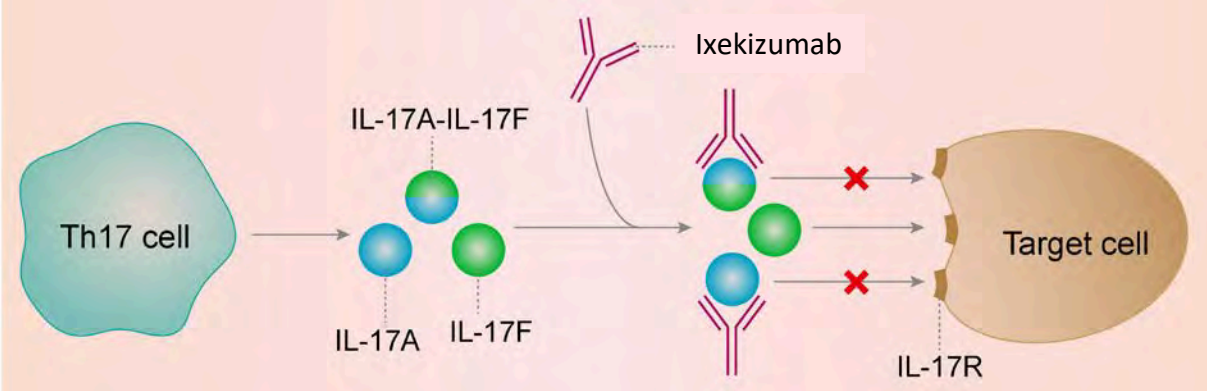


Figure 29 Mécanisme d'action de l'ixekizumab. IL-17A interleukine 17A ; IL-17F interleukine 17F ; Th lymphocyte T helper; IL-17R récepteur de l'IL-17 (Creative Biolabs 2018c)

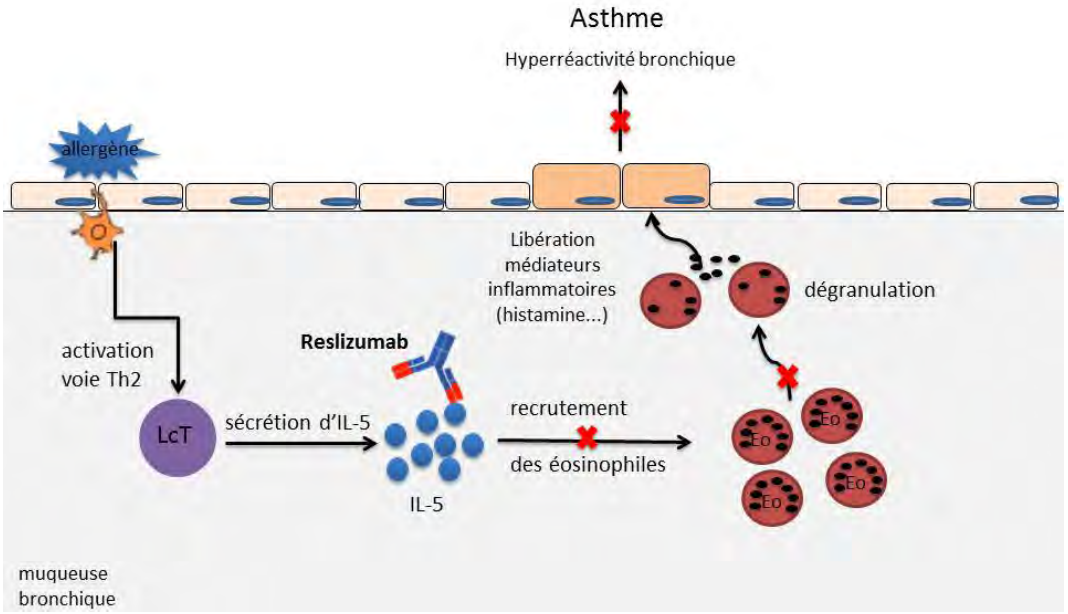


Figure 30 Mécanisme d'action du reslizumab (Service d'immunologie, Faculté de Pharmacie de Lille 2018b).

Le reslizumab est indiqué chez l'adulte comme traitement adjuvant de l'asthme éosinophilique sévère insuffisamment contrôlé par les corticostéroïdes inhalés à dose élevée, associés à un autre médicament destiné au traitement continu de fond.

Le reslizumab CINQAERO ou CINQAIR est administré en perfusion intraveineuse toutes les 4 semaines à une dose recommandée de 3 mg/kg. Des concentrations sériques maximales d'environ 80 µg/mL sont habituellement observées à la fin de la perfusion (Markham 2018).

6.2. Dupilumab

Le dupilumab est un anticorps monoclonal IgG4κ humain dirigé contre la sous-unité alpha du récepteur de l'IL-4 (IL-4Rα) (Vatrella *et al.* 2014). Il inhibe ainsi la signalisation de l'IL-4 et de l'IL-13 *via* le récepteur de type I de l'Il-4 (IL-4Rα/γc) et le récepteur de type II de l'IL-4 et de l'IL-13 (IL-4Rα/IL-13Rα) (Figure 31). Ces deux interleukines sont principalement sécrétées par les lymphocytes CD4+ Th2 et les cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2), mais une production en faible quantité est retrouvée dans les mastocytes, les polynucléaires éosinophiles et basophiles, les lymphocytes T CD8+ et les lymphocytes natural killer (NK) (Corren 2013; Steinke et Borish 2001). Elles favorisent le recrutement des PNE par augmentation de la synthèse d'éotaxine (facteur du chimiotactisme) et l'amélioration de leur adhésion endothéliale par une augmentation de l'expression du VCAM-1 au niveau de la peau et du poumon notamment (Corren 2013). Elles sont ainsi responsables de l'inflammation et des changements structuraux (remodelage) caractéristiques de l'asthme et de la dermatite atopique.

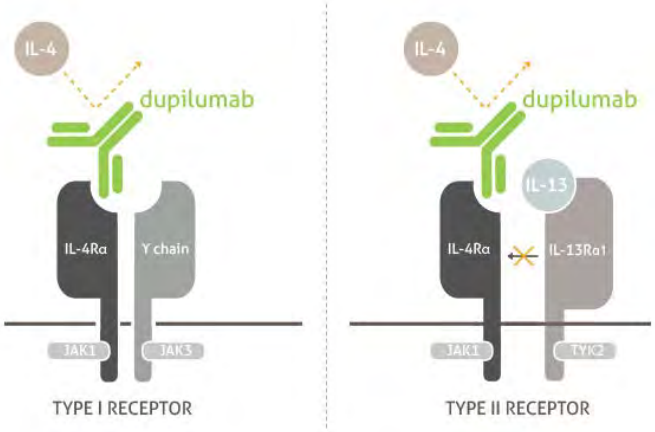


Figure 31 Mécanisme d'action du dupilumab (Sanofi US 2019).

Le dupilumab est indiqué dans le traitement de la dermatite atopique modérée à sévère de l'adulte qui nécessite un traitement systémique. Il est indiqué comme adjuvant dans le traitement de fond de l'asthme sévère associé à une inflammation de type 2 (caractérisée par des éosinophiles sanguins élevés et/ou une fraction de monoxyde d'azote expiré (FeNO)

élevée). Cette indication est valable chez les adultes et les adolescents de 12 ans et plus qui sont insuffisamment contrôlés par des corticostéroïdes inhalés à forte dose associés à un autre traitement de fond de l'asthme.

Le schéma posologique recommandé du dupilumab DUPIXENT pour les patients adultes et adolescents à partir de 12 ans est une dose initiale de 600 mg (deux injections de 300 mg), suivie de 300 mg administrés toutes les deux semaines par injection sous-cutanée. Les concentrations à l'état d'équilibre sont atteintes à la semaine 16 après l'administration d'une première dose de 600 mg, puis de doses de 300 mg une semaine sur deux. Dans les essais cliniques (Shirley 2017), la moyenne des concentrations résiduelles à l'état d'équilibre variait de 60,3 ± 35,1 µg/ml à 79,9 ± 41,4 µg/ml pour une dose de 300 mg et de 29,2 ± 18,7 à 36,5 ± 22,2 µg/ml pour une dose de 200 mg administrée une semaine sur deux.

6.3. Emicizumab

L'emicizumab est un anticorps monoclonal IgG4κ humanisé bispécifique reconnaissant les facteurs IX/IXa et X/Xa de la coagulation. Ces facteurs déclenchent l'activation du facteur X catalysée par le facteur IXa en liant les facteurs IXa et X comme le ferait le facteur VIIIa. Les détails de cette interaction ne sont pas élucidés (Kitazawa *et al.* 2017).

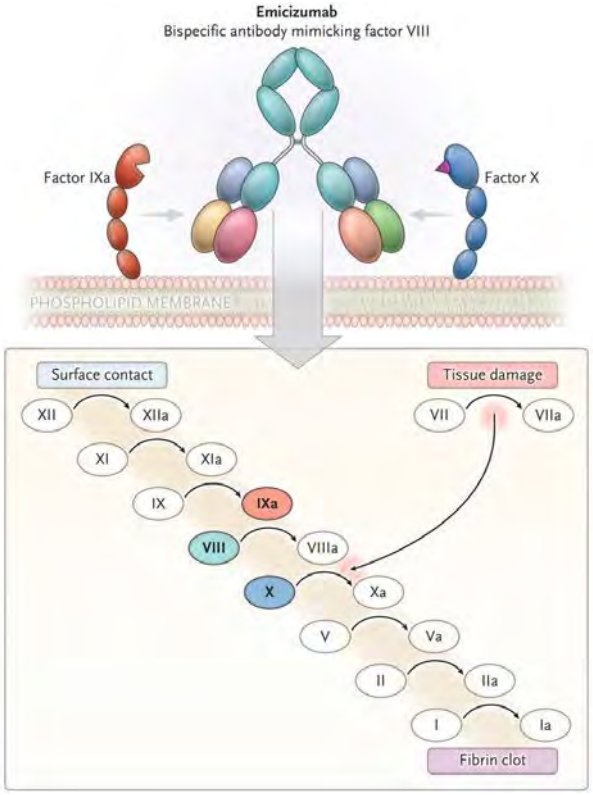


Figure 32 Mécanisme d'action de l'emicizumab (Kitazawa *et al.* 2017).

L'emicizumab est indiqué quel que soit l'âge, en prophylaxie pour prévenir les épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A (déficit congénital en facteur VIII) avec inhibiteur anti-facteur VIII et chez les patients atteints d'hémophilie A sévère (FVIII < 1 %) sans inhibiteur anti-facteur VIII.

L'administration de l'emicizumab HEMLIBRA se fait par injection sous-cutanée, la posologie recommandée est de 3 mg/kg une fois par semaine au cours des quatre premières semaines (dose de charge), suivie d'une dose d'entretien soit de 1,5 mg/kg une fois par semaine, soit de 3 mg/kg toutes les 2 semaines, soit de 6 mg/kg toutes les 4 semaines. Les concentrations plasmatiques maximales à l'état d'équilibre pour une dose de 6 mg/kg toutes les quatre semaines sont de 66,8 ± 17,7 µg/mL.

6.4. Gemtuzumab ozogamicine et Inotuzumab ozogamicine

Le gemtuzumab est un anticorps IgG4κ humanisé qui reconnaît spécifiquement le CD33. La partie anticorps se lie spécifiquement à l'antigène CD33, protéine d'adhésion dépendante de l'acide sialique présente sur la surface des blastes leucémiques myéloïdes et sur les cellules immatures normales de la lignée myélo-monocytaire, mais pas sur les cellules souches hématopoïétiques normales. La petite molécule ozogamicine, la N-acétyl-gamma-calichéamicine, est un produit naturel semi-synthétique cytotoxique. Cette dernière est liée par covalence à l'anticorps via un agent de liaison AcBut (acide 4-(4-acétylphénoxy)butanoïque). Les données non cliniques suggèrent que l'activité anticancéreuse du gemtuzumab ozogamicine est due à la liaison du conjugué anticorps-médicament (CAM) aux cellules tumorales exprimant le CD33, suivie par l'internalisation du complexe CAM-CD33, et par la libération intracellulaire du N-acétyl-gamma-calichéamicine diméthylhydrazide *via* le clivage hydrolytique de l'agent de liaison. L'activation du N-acétyl-gamma-calichéamicine diméthylhydrazide induit des ruptures des doubles brins d'ADN, induisant par la suite un arrêt du cycle cellulaire et une mort cellulaire apoptotique.

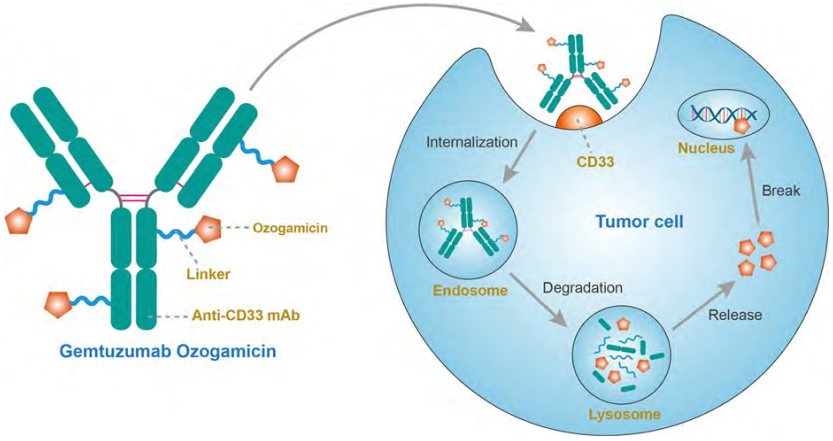


Figure 33 Mécanisme d'action du gemtuzumab ozogamicine (Creative Biolabs 2018a). Mécanisme comparable pour l'inotuzumab ozogamicine dont la cible est les CD22 (Creative Biolabs 2018b)

L'inotuzumab est un anticorps humanisé IgG4κ qui reconnaît spécifiquement le CD22. La N-acétyl-gamma-calichéamicine est liée par covalence à l'anticorps via un agent de liaison dissociable par un acide. L'activité anticancéreuse est due à la liaison de l'anticorps conjugué aux cellules tumorales exprimant le CD22. Le CD22 est retrouvé de manière quasiment exclusive à la surface des lymphocytes B matures, possiblement sur les lymphocytes B immatures. C'est une molécule régulatrice qui contrôle les seuils de transduction des signaux amorcés par le *B-cell receptor* (BCR) en réponse à un antigène. Elle inhibe donc la boucle d'amplification du système immunitaire et le développement de l'auto-immunité (Hatta *et al.* 1999).

Le gemtuzumab-ozogamicine est indiqué en association avec la daunorubicine et la cytarabine dans le traitement de patients âgés de plus de 15ans atteints de leucémie aiguë myéloïde d'expression positive du CD33 *de novo*. L'inutuzumab-ozogamicine est indiqué en monothérapie dans le traitement des patients adultes présentant une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à précurseurs B, d'expression positive du CD22 en rechute ou réfractaire. Les patients adultes présentant une LAL à précurseurs B en rechute ou réfractaire, avec chromosome Philadelphie positif doivent avoir subi un échec de traitement avec au moins 1 inhibiteur de la tyrosine kinase.

Le gemtuzumab-ozogamicine MYLOTARG doit être administré par voie IV après reconstitution en perfusion sur une période de deux heures. Lorsqu'il est administré à 3mg/m^2 aux jours 1, 4 et 7, la concentration maximale est de 0,38 mg/L après l'administration de la première dose et augmente jusqu'à 0,63 mg/L après l'administration de la troisième dose.

L'administration de l'inotuzumab-ozogamicine BESPONSA doit être effectuée par cycles de 3 à 4 semaines. Il est destiné à une administration IV en perfusion sur une heure. Pour les patients éligibles à une greffe de cellules souches hématopoïétiques, la durée de traitement recommandée est de deux cycles. Un troisième cycle peut être envisagé pour les patients n'obtenant ni une rémission complète (RC) ni une rémission complète avec récupération hématologique partielle (RCh) avec une négativité de la maladie résiduelle minimale après 2 cycles. Pour les patients non éligibles à une greffe de cellules souches hématopoïétiques, 6 cycles au maximum peuvent être administrés. Tout patient n'obtenant pas de RC/RCh au cours de 3cycles doit interrompre le traitement. Chez les patients présentant une LAL en rechute ou réfractaire traités par l'inotuzumab-ozogamicine à la dose initiale recommandée de 1,8mg/m2/cycle, une exposition à l'état d'équilibre a été atteinte avant de démarrer le cycle 4. La concentration sérique maximale moyenne d'inotuzumab ozogamicine est de 308 ng/mL (Hibma et Knight 2019).

6.5. Galcanezumab

Le galcanezumab est un anticorps monoclonal IgG4κ humanisé se liant au peptide relié au gène calcitonine (*calcitonin gene-related peptide* ou CGRP). Ce dernier est un puissant neuropeptide vasodilatateur, largement exprimé dans les neurones centraux et périphériques (Eftekhari et Edvinsson 2011; Lennerz *et al.* 2008; Warfvinge et Edvinsson 2013). L'implication de CGRP est aujourd'hui considérablement documentée dans la physiopathologie de la migraine où des concentrations sanguines élevées de CGRP ont été associées à la crise de migraine (Karsan et Goadsby 2015). Aussi, grâce au galcanezumab, l'accès au récepteur de CGRP est inhibé. Une étude sur des rats et des primates a permis de montrer que l'augmentation de capsaïcine CGRP-dépendante au niveau du flux sanguin dermique et la vasodilatation associée était diminuée, faisant de cet anticorps un potentiel agent thérapeutique pour prévenir les céphalées (Vermeersch *et al.* 2015). Les études cliniques ont confirmé ce point (Camporeale *et al.* 2018; Monteith *et al.* 2017).

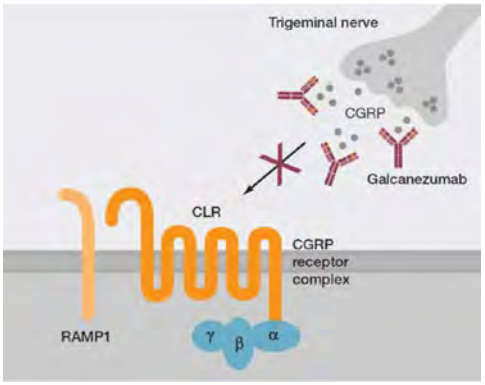


Figure 34 Mécanisme d'action du galcanezumab (Edvinsson *et al.* 2018)

Le galcanezumab est indiqué dans la prophylaxie de la migraine chez l'adulte ayant au moins 4 jours de migraine par mois.

La posologie recommandée est de 120 mg de galcanezumab EMGALITY en injection sous-cutanée une fois par mois, avec une dose de charge de 240 mg à l'initiation. D'après la fiche technique de l'EMA, la concentration sérique maximale à l'état d'équilibre après des doses mensuelles de 120 mg ou 240 mg est d'environ 28 µg/mL (CV de 35%) ou 54 µg/mL (CV de 31 %), respectivement. La concentration sérique maximale à l'état d'équilibre du galcanezumab à des doses mensuelles de 120 mg est atteinte après une dose de charge de 240 mg (Monteith *et al.* 2017).

6.6. Ibalizumab et Leronlimab

L'ibalizumab approuvé par la FDA en 2018 est en attente d'une décision de l'EMA. Le leronlimab est en cours d'étude. Ce sont des anticorps monoclonaux IgG4κ dirigés contre le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1).

Le premier est un anticorps monoclonal humanisé d'origine murine se liant à l'interface entre le domaine 1 et le domaine 2 du CD4, assez loin du site de liaison pour les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMH-II). Il n'inhibe pas la liaison de la glycoprotéine virale gp120 au CD4 (se déroulant au niveau du domaine 1 du CD4). Il semblerait que l'effet antiviral réside dans la prévention de l'interaction du groupement CD4-gp120 avec le second récepteur, le « *chemokine receptor*-5 » (CCR5) ou bien le « *CX chemokine receptor-4* » (CXCR4) (Sun *et al.* 2016). En combinaison avec d'autres antirétroviraux, la FDA a accordé l'indication pour les patients adultes pour traitement de l'infection au VIH-1 multi-résistant aux traitements existants.

Le second, le leronlimab, également humanisé, est un antagoniste du CCR5 avec plusieurs essais cliniques en cours (Kaplon et Reichert 2019).

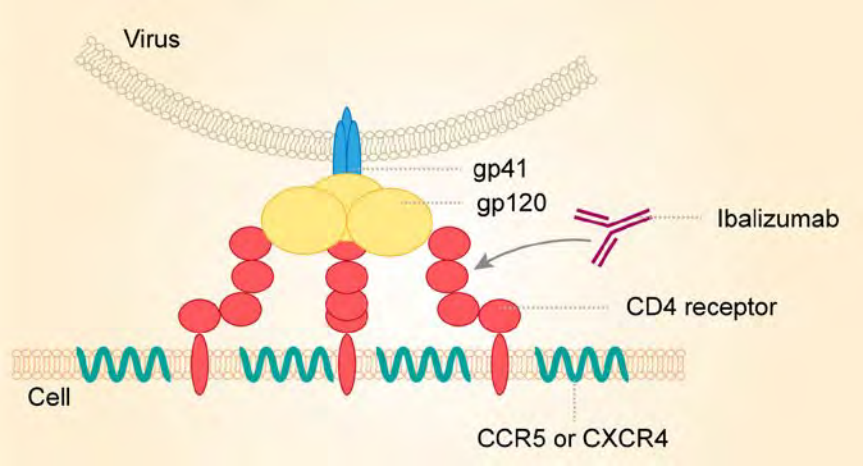


Figure 35 Mécanisme d'action de l'ibalizumab (Sun *et al.* 2016).

La posologie recommandée par la FDA concernant l'ibalizumab TROGARZO est une dose de charge de 2 000 mg en perfusion IV, suivie d'une dose d'entretien de 800 mg toutes les deux semaines. Lors des essais cliniques de Phase 3, la concentration maximale moyenne était de 402 µg/mL pour le groupe à 10 mg/kg et de 564 µg/mL dans le groupe à 25 mg/kg (Markham 2018).

L'IgG4 au laboratoire

1. Indications du dosage des sous-classes d'IgG et du dosage de l'IgG4

A l'heure actuelle, il n'y a pas de recommandation internationale concernant le dosage des sous-classes d'IgG et la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) ne précise pas les indications médicales qui conditionnent la prise en charge cet acte par les organismes d'assurance maladie.

Dans le cadre d'une **suspicion de déficit de l'immunité humorale**, qui peut être congénital ou acquis, un dosage de ces sous-classes d'IgG paraît légitime. Les signes de révélation les plus fréquents d'un déficit de l'immunité humorale sont les suivants : infections à répétitions des voies aériennes supérieures et inférieures ou, plus largement, infections répétées et/ou graves à germes encapsulés (méningite, septicémie...). Le Centre de Référence des Déficits immunitaires Héréditaires (CEREDIH) recommande ce dosage dans ce cadre en deuxième ligne. Il peut être prescrit si le dosage des IgG totales est normal, ou proche des limites inférieures de la norme (Pellier *et al.* 2013). Il doit être pratiqué après l'âge de 20 mois en raison de l'importante variation des taux qui peut être observée (Kamchaisatian *et al.* 2006). En effet, chez l'enfant la synthèse des IgG1 et IgG3 est plus précoce que celles des IgG2 et des IgG4. C'est entre l'âge de 5 et 7 ans que les IgG1 et IgG3 présentent des taux normaux équivalents aux adultes alors que pour les IgG2 et les IgG4, d'élévation plus lente, le taux normal adulte est atteint vers l'âge de 10 ans (Kamchaisatian *et al.* 2006). Le dosage des sous-classes d'IgG doit être confronté au taux d'IgG totales et aux résultats des sérologies post-vaccinales, l'interprétation combinée des deux examens améliorant leurs performances diagnostiques individuelles (Parker *et al.* 2017). Compte-tenu des différences inter-laboratoires liées à des méthodes de dosage différentes, le suivi doit être toujours effectué dans le même laboratoire pour des raisons d'interprétation et afin de s'assurer que la technique soit la même.

Dans la **maladie associée aux IgG4**, le dosage des IgG4 est un élément central du diagnostic, mais aussi du suivi (*cf. supra*, paragraphe 5.6.3.1.1).

Certains laboratoires effectuent le dosage d'IgG4 spécifiques dans le cadre d'une **exploration de l'allergie**.

Une équipe italienne a démontré leur absence d'intérêt dans le diagnostic biologique des allergies ou d'intolérance alimentaires (Antico *et al.* 2011). Chez 73 patients adultes ayant une suspicion d'allergie alimentaire et des manifestations cliniques d'urticaire

chronique ou d'autres symptômes cutanés suspects d'être de nature allergique, un dosage d'IgG4 spécifiques d'allergènes alimentaires avait été réalisé. Quarante-cinq patients (62%) avaient des IgG4 positives pour de multiples aliments (œuf, lait, caséine, blé et arachide principalement). Ces 45 patients avaient bénéficié d'un test de provocation orale (TPO). Aucun n'avait eu de réaction d'hypersensibilité. Les auteurs signalaient également qu'aucune donnée de la littérature ne permettait de soutenir l'intérêt de ce dosage dans ce contexte. La Société française d'allergologie avait également émis sa position en 2018, en concluant qu'en l'état actuel des connaissances médicales, les dosages d'IgG anti-aliments ne devraient plus être pratiqués en routine pour établir un diagnostic d'intolérance ou d'allergie alimentaire, avec l'instauration de régime d'éviction. Leur utilisation devrait être réservée à des fins de recherche (Chabane *et al.* 2018).

Une équipe française a mis au point un algorithme décisionnel pour le diagnostic d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) chez des patients sensibilisés à *Aspergillus fumigatus* (*A.f*) et à risque de d'ABPA. Cet arbre décisionnel repose sur les IgE et les IgG4 spécifiques d'*A.f* (Vitte *et al.* 2017).

Afin d'évaluer l'efficacité d'une ITS, le dosage des IgG4 spécifiques peut être demandé par les allergologues. Ces IgG4 spécifiques de l'allergène en cause augmentent entre le deuxième et le troisième mois après le début du traitement (El Hussan *et al.* 2008). Toutefois ces dosages ne sont pas inscrits dans la NABM. Ce sont des actes « hors nomenclature ». En décembre 2017, 64 investigateurs français provenant de 20 centres hospitaliers ou privés ont soumis une demande d'inscription au référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) pour le dosage des IgG4 spécifiques d'allergènes. L'hypothèse principale étant que le dosage des IgG4 spécifiques en complément du dosage des IgE de même spécificité augmenterait les performances du suivi d'ITS. Cette demande était conditionnée par les résultats d'une étude multicentrique d'envergure nationale dont les retombées attendues étaient : (1) meilleur suivi de l'efficacité, avec personnalisation thérapeutique si nécessaire ; (2) meilleure évaluation de la compliance au traitement ; (3) recours moindre à des tests de provocation réalistes, au coût médical et sociétal important, de disponibilité limitée ; (4) recours moindre aux traitements symptomatiques de l'allergie, donc diminution du coût et des effets secondaires ; (5) identification de patients bon répondeurs avant le début du traitement. Les investigateurs n'ont toujours pas eu de retour officiel sur leur demande au 31 juillet 2019. Une étude avait montré que augmentation des IgG4 spécifiques n'était pas corrélée à l'amélioration clinique (Flicker et Valenta 2003). Une enquête rétrospective de 6 études portant sur des ITS avait rapporté une corrélation entre l'augmentation des IgG4 spécifiques et l'amélioration clinique pour deux d'entre elles, tandis que les quatre autres ne retrouvaient pas cette association (Djurup et Malling 1987).

Dans le cadre les **maladies auto-immunes** décrites *supra* (partie Synthèse bibliographique, paragraphe 5.4), le diagnostic repose notamment sur la présence des anticorps auto-immuns dont l'isotype peut s'avérer être totalement ou majoritairement IgG4.

Compte tenu des données disponibles, le dosage des sous-classes d'IgG est utile dans les cas de suspicion de déficit immunitaire primitif et dans le cadre de suspicion de MAG4. L'indication du dosage des IgG4 spécifiques en allergologie reste à démontrer.

2. Conditions préanalytiques et transport

Au CHU de Bordeaux, le dosage des sous-classes d'IgG s'effectue à partir de sérum (prélèvement sur tube sec avec gel séparateur et silice, bouchon jaune). Le transport est effectué à température ambiante, la centrifugation et l'aliquotage doivent être réalisés en moins de 24 heures dans ces conditions. En accord avec la norme ISO EN 15189 :2012, le laboratoire « s'assure que les échantillons ont été conservés à la température appropriée […] afin d'assurer leur intégrité ». Au CHU de Bordeaux, la prise en charge analytique peut être effectuée jusqu'à 5 jours à +4°C. La conservation se fait à -20°C.

La version 54 de la Table nationale de Biologie du 7 août 2019, accessible sur le site de l'assurance maladie (*https://www.ameli.fr*) donnait la cotation B70 pour une sous-classe d'IgG et B190 pour les quatre sous-classes d'IgG. Et ce, conformément à la NABM qui décrit la cotation des actes.

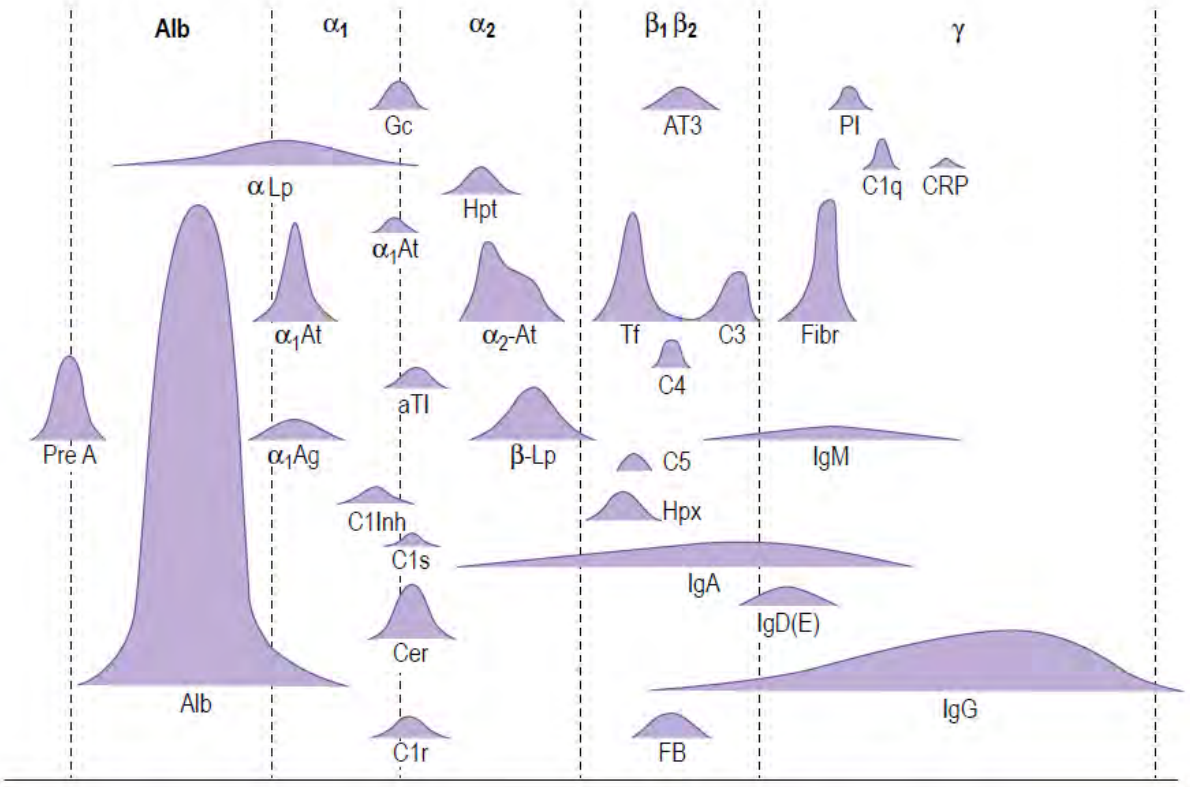
3. Caractérisation des immunoglobulines et des IgG4

Les méthodes de détection et de quantification des immunoglobulines ont été développées depuis plusieurs dizaines d'années et présentent des performances très variables. Nous présentons les techniques qualitatives et semi-quantitatives pour la détection (méthodes électrophorétiques) et les techniques quantitatives (méthodes de précipitation) pour le dosage (Homburger et Singh 2008).

3.1. Méthodes électrophorétiques

La détection qualitative des immunoglobulines repose sur la migration des protéines en électrophorèse sur gel d'agarose ou en électrophorèse capillaire. L'électrophorèse des protéines sériques est initialement utilisée pour évaluer la présence d'une immunoglobuline monoclonale ou estimer ses variations de concentration. Le profil de migration normal retrouvé pour les protéines circulantes sériques est présenté dans la Figure 36 (Homburger et Singh 2008). La migration repose sur la charge nette des protéines dans un champ

électrique assurant leur séparation électrophorétique. Les protéines sériques sont amphotériques et leur charge dépend du pH de la solution tampon. Dans des conditions de pH inférieur au point isoélectrique de la protéine, celle-ci migrera vers l'anode. Inversement, une solution tampon avec un pH supérieur au point isoélectrique induira une migration de la protéine vers la cathode. La taille et la forme de la molécule, la force ionique du tampon, la résistance au frottement du support, la température, l'intensité et la durée d'application du courant électrique sont toutes sources d'influence dans la migration des protéines.



α_1Ac	α_1-antichymotrypsin	**Cer**	Ceruloplasmin	**Pre A**	Prealbumin
α_1Ag	α_1-acid glycoprotein	**CRP**	C-reactive protein	**Tf**	Transferrin
α_1At	α_1-antitrypsin	**Gc**	Gc-globulin (vitamin D-binding protein)	**Compliment components:**	As designated
α_2M	α_1-macroglobulin			**Clq, Clr, Cls**	
α-LP	α-lypoprotein	**FB**	Factor B	**C3, C4, C5**	
Alb	albumin	**Fibr**	Fibrinogen	**Immunoglobulins:**	As designated
At3	antihrombin III	**Hpt**	Haptoglobin	**IgA, IgD, IgE, IgM6**	
α-Lp	α-lipoprotein	**Hpx**	Hemopexin		
CIInh	C1 esterase inhibitor	**PI**	Plasminogen		

Figure 36 Profil de migration électrophorétique des protéines plasmatiques (Homburger et Singh 2008).

En électrophorèse sur gel d'agarose, le pH du tampon est généralement de 8,6. Les immunoglobulines ont ainsi une faible charge nette et ont tendance à être influencée par l'endosmose. L'agarose offre un milieu avec moins de résistance au frottement que l'acétate de cellulose historiquement utilisé et présente plus finement les différentes bandes

protéiques. Suite à l'électrophorèse sur gel durant un temps standardisé, les protéines sont colorées à l'amidoschwarz, au bleu de Coomassie ou au violet acide. Les bandes correspondent à des protéines colorées, leur intégration semi-quantitative peut être évaluée par un spectrophotomètre.

L'électrophorèse capillaire a permis d'améliorer la sensibilité et le délai de rendu du résultat. La migration se fait dans un capillaire de silice fondue, chargé négativement. Un champ électrique est appliqué, faisant migrer les protéines vers la cathode. Les différentes fractions sont quantifiées par un système optique.

Nous distinguons six zones à l'électrophorégramme : albumine (protéine circulante majoritaire), α1-globulines, α2-globulines, β1-globulines, β2-globulines, γ-globulines (Figure 37).

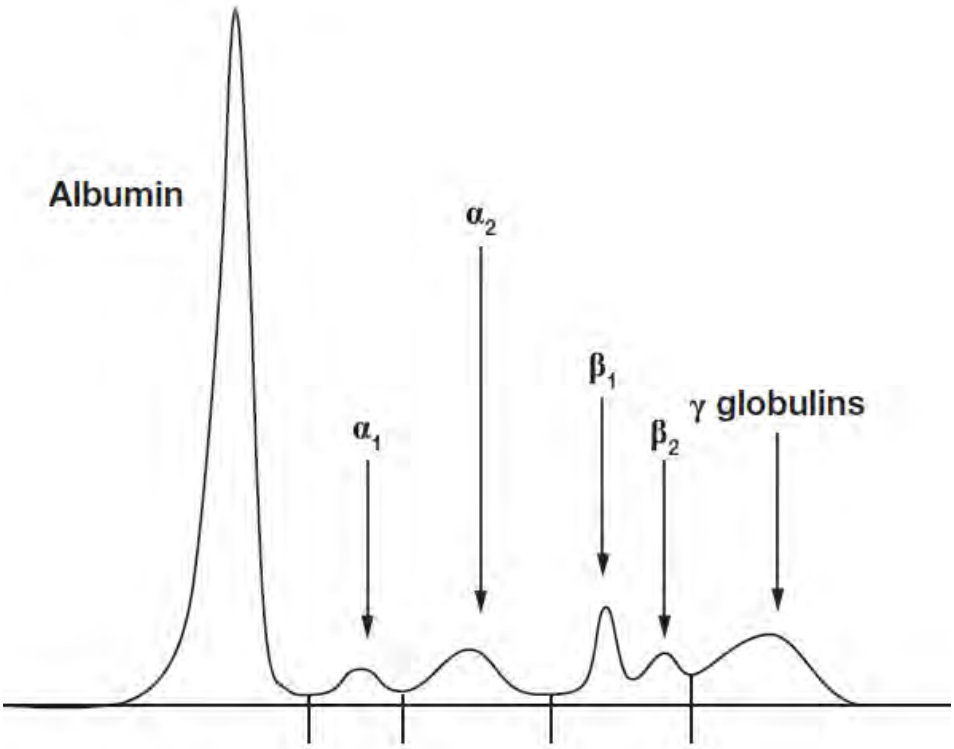


Figure 37 Electrophorégramme de protéines sériques avec un profil normal (Finn *et al.* 2016).

Ces techniques ne permettent pas de distinguer les classes des immunoglobulines. L'immunofixation sérique combine la résolution de l'électrophorèse à la spécificité d'une réaction de précipitation antigène-anticorps pour caractériser une classe d'Ig. En routine, l'immunofixation sert à typer l'anomalie monoclonale observée par électrophorèse. La technique de séparation est fondée sur le même principe de migration sur gel. C'est l'incubation d'une bande de migration avec un antisérum spécifique de l'Ig recherchée qui va donner la spécificité (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, chaînes légères κ et λ). La bande et l'antisérum correspondant forment un précipité sur le gel à la zone d'équivalence anticorps-antigène. Le gel est ensuite lavé pour enlever les protéines non précipitées. Une coloration à

l'amidoschwarz, au bleu de Coomassie ou au violet acide est finalement appliquée. L'immunofixation est plus sensible que l'électrophorèse. Il existe aussi l'immunosoustraction qui est une technique analytique permettant le typage d'un pic monoclonal en électrophorèse capillaire. Des anticorps (anti-γ, anti-α, anti-μ, anti-κ, anti-λ…) fixés à des billes sont ajoutés au sérum. Les complexes Ag-Ac précipitent et l'électrophorèse capillaire est réalisée sur le surnageant. Une disparition de la fraction correspondant à l'anti-sérum utilisé est alors visualisée.

La limite de détection est de l'ordre de 500 mg/L pour les électrophorèses, elle est sensiblement moins bonne que pour les techniques de typage où il n'est pas exceptionnel d'observer des bandes correspondant à 200 mg/L voire 150 mg/L de protéines (Bioforma, N°28, 2003).

La migration des sous-classes d'IgG et plus particulièrement de l'IgG4 en électrophorèse, est décrite dans deux publications. La première équipe (Jacobs, van der Molen, et Keren 2014a) a utilisé des sérums de patients atteints de MAG4 et présentant une concentration sérique élevée d'IgG4. L'hypothèse de ces auteurs était que les patients atteints de MAG4 présentaient un profil électrophorétique évoquant une gammapathie monoclonale. En réalité, la bande focale détectée par électrophorèse est de nature polyclonale, à la fois en immunofixation et en immunosoustraction. Ces travaux montrent par ailleurs que les IgG4 migrent en début de la fraction des γ-globulines.

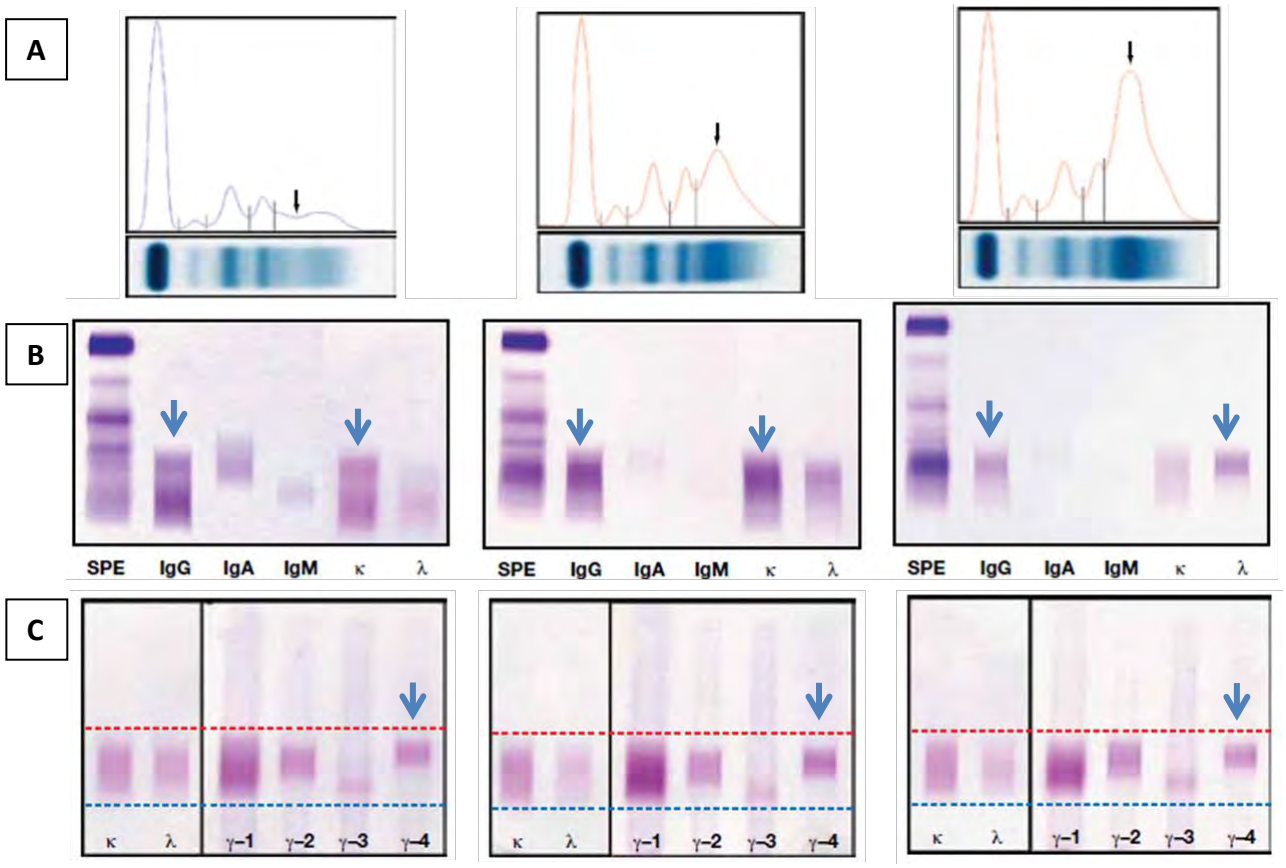


Figure 38 Electrophorèse et Immunofixation de patients atteints de MAG4 (Jacobs, van der Molen, et Keren 2014b)
A – Profils de migration en électrophorèse sur gel d'agarose avec 3,9 ; 24,2 ; 30,6 g/L d'IgG4.
B – Profils de migration en immunofixation des IgG, A, M avec les chaînes légères κ et λ avec 3,9 ; 24,2 ; 30,6 g/L d'IgG4.
C - Profils de migration en immunofixation des sous-classes IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 et des chaînes légères κ et λ, les pointillés indiquent les bornes anodiques (en rouge) et cathodique (en bleu) de la fraction gamma.
Les flèches bleues indiquent la présence d'une bande diffuse d'allure polyclonale.

La seconde équipe (Finn *et al.* 2016) a étudié les profils de migration électrophorétiques de 303 sérums dont le taux d'IgG4 étaient supérieures à 2,01 g/L (borne supérieure du dosage du laboratoire). Ces auteurs ont montré que l'augmentation des IgG4 bien que polyclonales pouvait induire un profil électrophorétique pouvant mimer une gammapathie monoclonale dans la mesure où un pic peut être présent au même endroit que lors des myélomes IgG4. Des pseudo-restrictions d'hétérogénéité kappa ont également été observées en immunosoustraction probablement en lien avec un ratio kappa/lambda naturellement augmenté chez les IgG4 (*cf. supra*).

L'étude des profils de migration des IgG4 chez des patients présentant une MAG4, une gammapathie IgG4 ou tout simplement une augmentation des IgG4 (dans un contexte polyclonal ou non) a permis d'identifier une zone particulière. Cette migration se fait en début de la fraction des gammaglobulines et dont l'aspect peut prêter à confusion en électrophorèse.

3.2. Méthodes quantitatives de dosage des IgG4

Les techniques de dosage sont fondées sur le principe d'immuno-précipitation en milieu solide ou liquide. Elles ont évolué pour être plus précises et sensibles. Leurs caractéristiques principales sont résumées dans le Tableau X.

Tableau X Caractéristiques principales des méthodes quantitatives de dosage des sous-classes d'IgG

	Immunodiffusion radiale	ELISA	Néphélémétrie / Turbidimétrie
Support	Milieu solide	Solide	Milieu liquide
Temps d'analyse	48 à 72h	Quelques heures	Quelques minutes
Coût	Faible à modéré	Modéré à élevé	Modéré à élevé
Limite de quantification	0,5 mg/L	0,1 kUA/L	1 µg/L
Automatisation	-	+/-	+
Réactifs disponibles (Fournisseur)	-	ThermoFischer	The Binding Site Siemens

3.2.1. Immunodiffusion radiale

L'immunodiffusion radiale (selon Mancini) est la méthode historique de détermination du taux de sous-classes d'IgG. Référencée parmi les méthodes utilisées par les laboratoires en routine jusqu'en septembre 2013 selon les données UK-NEQAS (Sheffield Teaching Hopital NHS 2019), elle est aujourd'hui largement supplantée par les techniques de néphélémétrie et turbidimétrie.

Son principe est fondé sur des géloses d'agarose prêtes à l'emploi, imprégnées d'anticorps anti-immunoglobulines ou anti-sous-classes d'IgG. Les échantillons de sérum de patients, les contrôles et les calibrateurs sont déposés dans des puits prévus à cet effet et se dispersent par diffusion. Quand les concentrations d'antigène et d'anticorps sont équivalentes, les complexes immuns précipitent, révélant un anneau de précipitation. Après 48 à 72 heures d'incubation à température ambiante, les diamètres des anneaux d'immunoprécipitation sont mesurés à l'aide d'une règle micrométrique. Une courbe de calibration est établie à partir des concentrations des calibrateurs et des diamètres obtenus. Les contrôles valident la courbe de calibration et les valeurs des patients sont déterminées. La limite de quantification est environ de 0,5 mg/L.

Figure 39 Exemple de plaque d'immunodiffusion radiale pour les IgG1.

C'est également la technique ayant servi à déterminer le valeur de 1,35 g/L d'IgG4 pour la MAG4 (Hamano *et al.* 2001), seuil au-delà duquel la maladie est considérée comme possible (voire probable ou définie si associée aux autres critères cliniques et anatomo-pathologiques) d'après les recommandations diagnostiques de 2011 (Umehara, Okazaki, Masaki, Kawano, Yamamoto, Saeki, Matsui, Yoshino, *et al.* 2012).

3.2.2. ELISA

L'ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) est une méthode immunoenzymatique utilisée par la technique ImmunoCAP de ThermoFischer pour mettre en évidence les IgG4 spécifiques d'allergènes. C'est un immunodosage de type «sandwich».

La phase solide est constituée d'un dérivé cellulosique enfermé dans une capsule. Le polymère hydrophile fortement ramifié offre un microenvironnement idéal pour les allergènes, qui favorise leur fixation tout en préservant leur structure native.
L'antigène en question couplé de façon covalente à la phase solide réagit avec les IgG4 spécifiques de l'échantillon du patient (Figure 40-1). Après avoir lavé l'IgG4 non spécifique, des anticorps anti-IgG4 marqués par une enzyme sont ajoutés pour former un complexe (Figure 40-2). Après incubation, les anti-IgG4 marqués par l'enzyme non liés sont éliminés par lavage et le complexe lié est alors incubé avec une solution de développement (Figure 40-3). Après avoir arrêté la réaction, la fluorescence de l'éluât est mesurée (Figure 40-4). La fluorescence est directement proportionnelle à la concentration d'IgG4 spécifiques dans l'échantillon de sérum. La limite de quantification est de 0,1 kUA/L (Kilo Unité d'Allergène par litre).

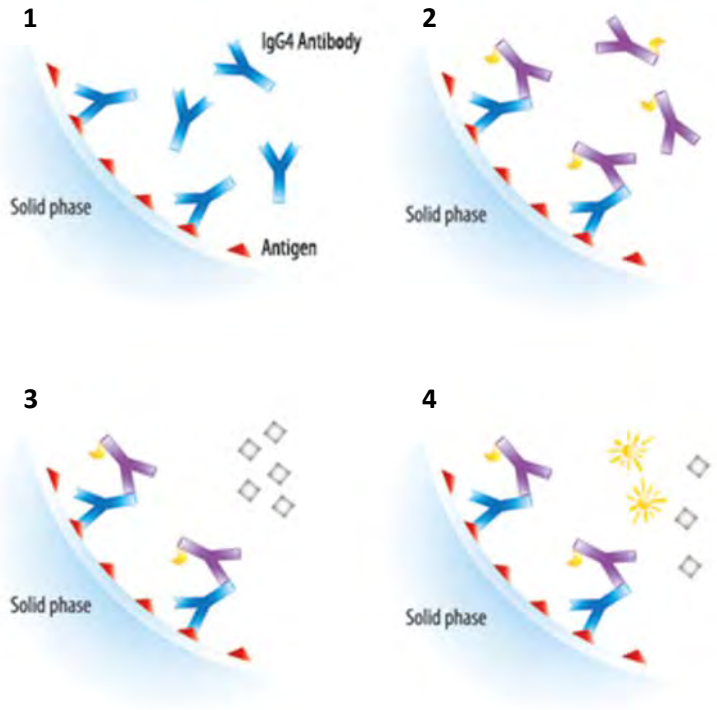


Figure 40 Principe de l'ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012)

3.2.3. Turbidimétrie et néphélémétrie

La turbidimétrie et la néphélémétrie ont largement remplacé l'immunodiffusion radiale. Ces techniques sont fondées sur la formation de complexes immuns à l'origine du trouble et la mesure de l'effet de transmission ou de dispersion de la lumière incidente.

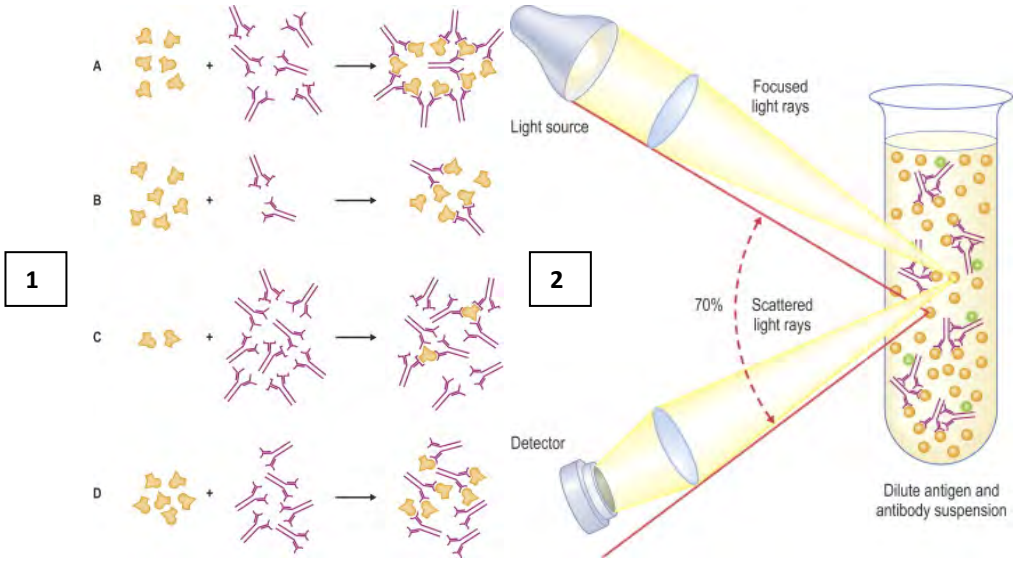


Figure 41 1-Réaction de précipitation. Les molécules d'antigènes sont représentées avec trois sites antigéniques (épitopes) à leur surface. A) situation proche de la zone d'équivalence où précipités se forment B) situation avec excès d'antigène où précipités ne peuvent pas se former C) situation avec excès d'anticorps où les précipités ne peuvent pas se former D) situation avec un anticorps monoclonal en excès où les précipités ne peuvent pas se former **2-Principe de néphélémétrie**

En néphélémétrie, le faisceau diffracté selon un angle θ est mesuré par densité optique dans une cellule photoélectrique (Borderie 2007). Le signal est proportionnel à la concentration d'analyte dosé.

La turbidimétrie se caractérise par l'absorption du faisceau en lumière transmise, donc dans la direction du faisceau incident. Le signal est donc inversement proportionnel à la concentration d'analyte dosé (Figure 42). Bien que cette méthode soit plus performante en situation d'excès d'anticorps, elle est moins sensible que la néphélémétrie.

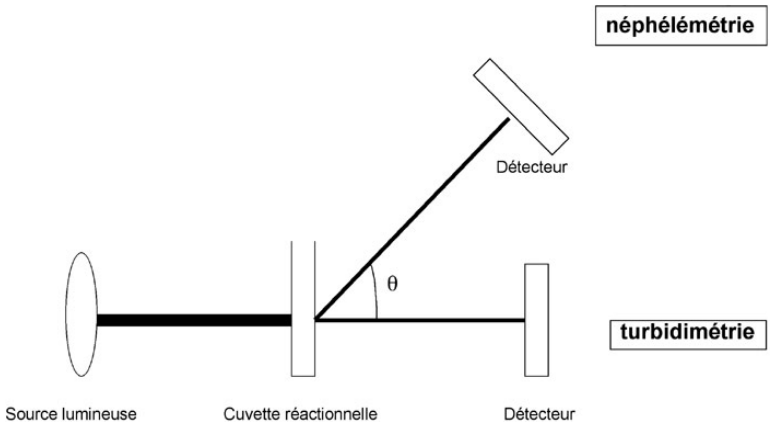


Figure 42 Turbidimétrie vs Néphélémétrie (Borderie 2007).

L'utilisation de particules de latex a permis d'améliorer considérablement la sensibilité puisque des limites de quantification de l'ordre d'1 µg/L de protéine peuvent être retrouvées. Cette technique permet aussi de s'affranchir des problèmes des effets de matrice et des problèmes de blancs puisque les échantillons sont très dilués (Borderie 2007). Toutefois les techniques ne sont pas standardisées et il n'y a pas de consensus quant aux valeurs de références en fonction de l'âge (Bossuyt *et al.* 2005).

Le Tableau XI présente les valeurs normales du laboratoire d'Immulogie et Immunogénétique du CHU de Bordeaux pour l'adulte, déterminées par néphélémétrie et recommandées par le CEREDIH (Picard 2007) pour les IgG, IgA et IgM et par le fournissuer de réactifs The Binding Site pour les sous-classes d'IgG.

Tableau XI Taux normaux des immunoglobulines chez l'adulte (g/L). Ig = immunoglobuline

Paramètre	Valeur normale (g/L)
IgG	6,6-12,8
IgA	0,7-3,4
IgM	0,5-2,1
IgG1	3,824-9,286
IgG2	2,418-7,003
IgG3	0,2182-1,761
IgG4	0,0392-0,7370

4. Discordance entre le taux cumulé des sous-classes d'IgG et le taux d'IgG totales

Lorsque les sous-classes d'IgG sont dosées individuellement, faire la somme et la comparer au dosage des IgG totales est une logique d'esprit que tout un chacun peut avoir à la lecture des résultats d'un bilan biologique. Les deux résultats devraient être identiques, ou du moins très proches mais ce n'est pas le cas en pratique courante. Dès 1981, Beck et Kaiser avaient étudié les performances de la néphélémétrie récemment introduite pour le dosage des sous-classes d'IgG (Beck et Kaiser 1981a, 1981b). La technologie Beckman Coulter (Brea, Californie, États-Unis) était utilisée (Immunochemistry Analyser). Sur les 5 patients normaux analysés, une différence était observée entre le taux d'IgG totales et la somme des sous-classes d'IgG. Les auteurs concluaient sur la nécessité d'une méthode fiable, peu coûteuse et rapide pour la détermination des taux de sous-classes d'IgG.

Plus récemment, une étude rétrospective plus importante comprenant 571 prélèvements de sérum a été menée pour étudier la différence entre le taux d'IgG totales et la somme des sous-classes d'IgG (McLean-Tooke *et al.* 2013). Les réactifs pour néphélémétrie/turbidimétrie de Sanquin (Amsterdam, Pays-Bas) sur l'instrument Immage 800 (Beckman Coulter) ont été utilisés.

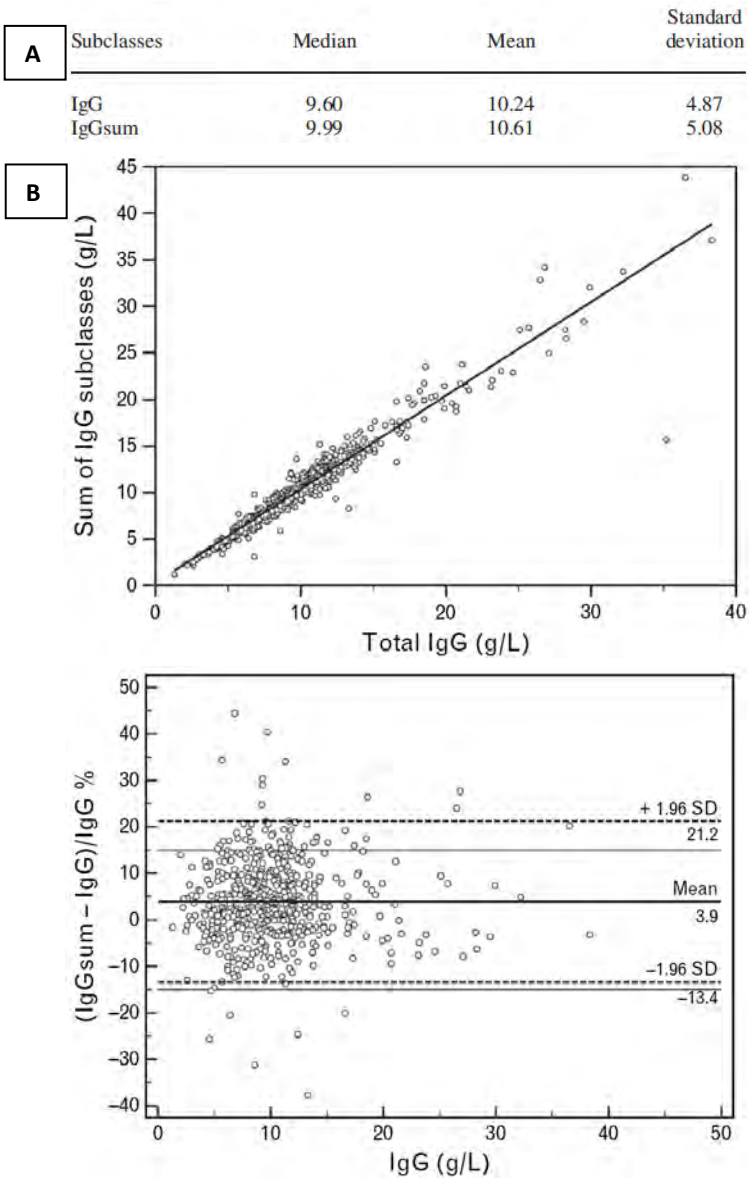


Figure 43 Comparaison des IgG totales et de la somme des sous-classes d'IgG. A) Moyenne, médiane et écart-type des 571 patients B) Diagramme de dispersion des IgG totales contre la somme des sous-classes d'IgG avec régression linéaire (y = 0.3060 + 1.0057x) C) Diagramme de Bland-Altman montrant la différence des IgG (IgG totales – somme des sous-classes d'IgG), exprimée par rapport au IgG totales pour chaque échantillon (McLean-Tooke *et al.* 2013)

Leurs résultats indiquaient qu'en moyenne la somme des sous-classes d'IgG était 3,7% plus élevée le dosage des IgG totales. Une bonne corrélation était retrouvée entre les deux dosages. Sur tous les dosages, 60 présentaient une différence de plus de 15% entre les deux valeurs (soit 10,6%). Cinquante et un avaient une somme supérieure de 15% et 9 une somme inférieure de 15%. Aussi, les auteurs concluaient sur la vérification en effectuant à nouveau le dosage des prélèvements montrant une différence de plus de 15%. Si la différence persistait, ils recommandaient d'utiliser une autre technique d'analyse.

En 2018, une étude similaire (Pasternak, Lewandowicz-Uszyńska, et Pentoś 2018) a été réalisée chez 670 enfants âgés de 6 mois à 18 ans. La détermination des IgG a été évaluée

par immunoturbidimétrie sur Architect cSystem (Abbott, Chicago, Illinois, États-Unis). Les sous-classes ont été dosées par néphélémétrie sur BN ProSpec (Siemens, Munich, Allemagne). Dans cette analyse rétrospective, les IgG totales étaient en moyenne 5,8% supérieures à la somme des sous-classes d'IgG (significativement, $p<0,05$). L'observation est donc opposée à celle faite en 2013.

Ces études démontrent la discordance entre le taux d'IgG totales et la somme des sous-classes d'IgG au quotidien au laboratoire. La littérature ne permet pas de retrouver d'explication mais nous pouvons supposer qu'elle résulte soit d'un défaut de reconnaissance d'une ou plusieurs sous-classes du réactif dosant les IgG totales (par manque d'anticorps dirigés contre une ou plusieurs sous-classes, ou bien par manque de sensibilité des anticorps du réactif) ; soit d'un manque de spécificité du réactif permettant de doser les sous-classes d'IgG.

5. Taux d'IgG4 faussement abaissé en routine

Le dosage des sous-classes d'IgG a évolué ces dernières années. En effet, alors que la MAG4 commençait à être identifiée, le dosage des sous-classes d'IgG et notamment l'IgG4 devenaient utiles au diagnostic. Les fournisseurs ont ainsi adapté les techniques de dosage. Cependant, plusieurs techniques avaient été mises en défaut lors de leur évaluation : elles rendaient un taux d'IgG4 normal alors qu'il était en réalité augmenté (résultat faussement négatif). C'est un rapport de l'*United Kingdom National External Quality Assurance Scheme* (UK NEQAS, Londres, Royaume-Uni) et d'autres publications (Carruthers *et al.* 2015; Khosroshahi *et al.* 2014; Lock *et al.* 2014; Parker et Carr-Smith 2014) qui avaient mis en exergue le fait que le taux d'IgG4 était faussement abaissé pour au moins deux fournisseurs.

Historiquement, les IgG4 étaient dosées dans le cadre de suspicion de déficit immunitaire avec les autres sous-classes d'IgG (Egner *et al.* 2016). Aussi les tests avaient été optimisés pour la détection de taux normaux ou abaissés d'IgG4. La relevance clinique d'un taux élevé étant aujourd'hui démontré, les réactifs ont été adaptés en conséquence en termes de limites supérieures de quantification. Pour exemple, les réactifs de The Binding Site (Birmingham, Royaume-Uni) indiquent aujourd'hui 2,4 g/L comme limite supérieure de détection pour les IgG4.

Le taux faussement normal d'IgG4 était lié à des conditions analytiques en excès d'antigène. Cette condition, aussi connue sous le nom d'effet prozone, est illustrée par la courbe cinétique d'Heidelberger-Kendall qui traduit le niveau d'interactions entre les antigènes et les anticorps en fonction de la concentration d'antigènes. Dans les méthodes néphélémétriques et turbidimétriques, on retrouve deux zones où il n'y a pas d'équilibre dans le niveau d'interactions : l'excès d'anticorps où le résultat est correct et l'excès d'antigène où le résultat est faussement abaissé (Jacobs *et al.* 2015). En effet, dans ces

conditions les antigènes sont en compétition pour les sites de liaison des anticorps qui ne sont pas assez nombreux pour agglutiner tous les antigènes. Les complexes immuns se solubilisent à nouveau sous l'effet compétitif, donnant *in fine* une réduction du signal détecté (Figure 45).

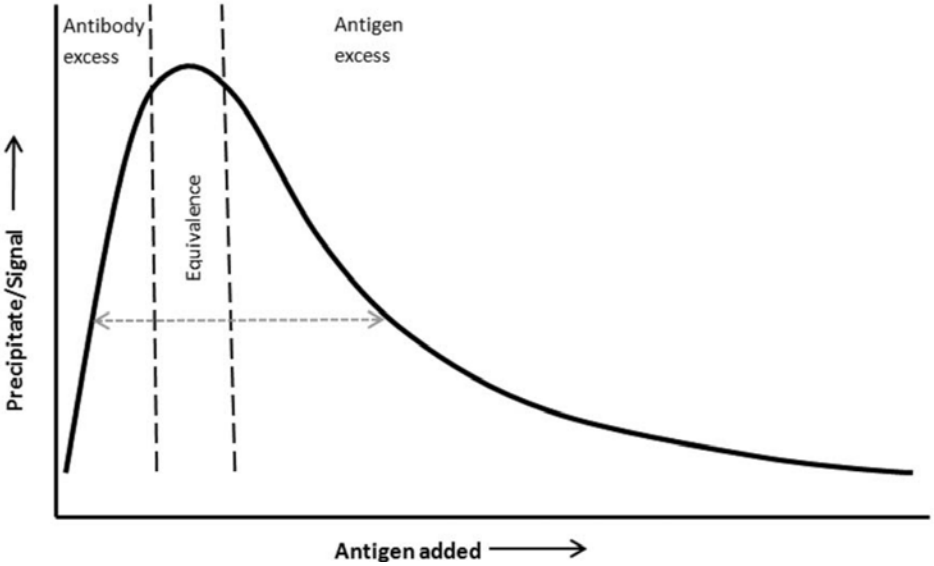


Figure 44 Courbe d'Heidelberger-Kendall (Egner *et al.* 2016). Il existe 3 zones : excès d'anticorps, équivalence, excès d'antigènes. La flèche grise indique un résultat de même valeur alors que la concentration d'antigène n'est pas la même**.**

Le rapport UK NEQAS de décembre 2012 pour *Immunology, Immunochemistry and Allergy* (IIA) suggéra aux participants ayant rendu des taux faussement diminués (échantillons 132-2 et 136-2, de façon reproductible), d'évaluer s'il était possible qu'ils aient été en condition d'excès d'antigène. The Binding Site a répondu en 2014 en proposant un changement dans le déroulement du dosage des IgG4 en incluant une vérification en deux étapes de la condition d'excès d'antigènes sur les analyseurs Siemens BNII (Parker et Carr-Smith 2014). Dorénavant, une fraction de l'échantillon est d'abord testée avant l'ajout du reste de la prise d'essai. C'est le principe de la pré-réaction. Une nouvelle dilution est appliquée si le seuil spécifique au paramètre est dépassé. Le volume restant de la prise d'essai est alors ajouté. Une étude comparative a confirmé l'amélioration du rendu du résultat (Egner *et al.* 2016). Les auteurs ont montré par une étude rétrospective que 41% des prélèvements présentant des taux d'IgG4 élevés suite à la mise à jour des réactifs auraient été rendus faussement abaissés (< 0,64 g/L). Siemens a changé ses calibrateurs (Parker et Carr-Smith 2014), plus adaptés aux valeurs augmentées d'IgG4 (Wilson *et al.* 2013).

Le laboratoire du CHU de Bordeaux, utilisateur du réactif de The Binding Site, avait été confronté à ce problème analytique. Les nouveaux réactifs de The Binding Site avaient été mis en application fin d'année 2014. Par ailleurs, le principe de pré-réaction avait été étendu aux dosages : des IgG3, des IgM, des chaînes légères libres et d'autres paramètres pris en charge par le laboratoire de Biochimie.

6. Interférences analytiques liées aux IgG4

D'après les caractéristiques décrites *supra*, les IgG4 présentent des similarités fonctionnelles ressemblant au facteur rhumatoïde (FR). Il convient alors de s'interroger sur leur capacité à également engendrer des interférences analytiques comme pourraient le faire le FR. Compte-tenu de la liaison Fc-Fc observée pour l'IgG4, il semble peu probable qu'il existe des interférences positives consistant en la formation d'un pont entre les deux anticorps d'un dosage sandwich par exemple (Sapin 2008). Les interférences négatives peuvent être envisageables si nous considérons que l'anticorps recherché est reconnu au niveau des domaines CH2 ou CH3. Les IgG4 peuvent se fixer par compétition sur ces domaines qui ne seront pas accessibles pour les anticorps du dosage. Cependant, il n'y a pas d'élément dans la littérature en faveur d'interférences analytiques médiées par les IgG4.

Comme autres sources d'interférences analytiques, nous pouvons citer les anticorps monoclonaux. En effet, le daratumumab, une IgG1κ indiquée dans la prise en charge du myélome, peut être visible à l'électrophorèse en fin de fraction γ, et être interprétée comme étant une anomalie monoclonale (van de Donk *et al.* 2016). Concernant les IgG4 monoclonales utilisées en thérapeutique, la littérature ne fait pas état de telles interférences.

7. IgG4 dans le LCR

A l'heure actuelle, le dosage des sous-classes d'IgG et donc de l'IgG4, est cantonné au sérum où les techniques sont validées en routine. Néanmoins, il existe un intérêt grandissant pour une évaluation dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). En effet, dans le cadre d'une forme particulière de la MAG4 qui est la pachyméningite, l'augmentation des IgG4 serait observée dans le LCR, possiblement de manière exclusive (Lu *et al.* 2016). Le dosage des IgG4 dans le LCR n'est pas validé en routine, il a été évalué en recherche sur 3 patients avec une atteinte nerveuse de MAG4 et 9 patients contrôle (Della-Torre, Galli, *et al.* 2014). Une tendance à l'augmentation du taux d'IgG4 dans le LCR semble être observée puisque les 3 patients ayant une pachyméningite à MAG4 ont une médiane de taux à 51,7 mg/L (49,4 – 53.6 mg/L) contrairement aux 9 patients contrôles qui ont une médiane de taux à 0,5 mg/L (0,5 – 0,9 mg/L). Des analyses complémentaires doivent valider le dosage en routine et des programmes hospitaliers de recherche clinique (PHRC) sont en cours.

Chapitre 1

Application des critères prévisionnels CCAE et pertinence du taux d'IgG4 pour le diagnostic de la MAG4 dans une cohorte française

Contexte :

Le diagnostic de la MAG4 repose sur les critères diagnostiques publiés en 2011 (Umehara *et al.* 2012). Parmi les critères considérés, l'augmentation du taux d'IgG4 est un élément capital pour établir le diagnostic puisqu'elle constitue une des trois conditions *sine qua non* pour définir le caractère certain de la maladie (Umehara *et al.* 2012). Récemment, de nouveaux critères de classification ont été proposés par un groupe de travail international de l'ACR et de l'EULAR au congrès de l'ACR en octobre 2018 (*ACR/ARHP Annual Meeting 2018.* ACR 2018. Chicago, Etats-Unis). Bien qu'ils ne soient pas encore publiés lors de la rédaction du mémoire, ils ont été diffusés par les auteurs. L'objectif de ces critères est de définir avec certitude le diagnostic de MAG4. Ils proposent un cheminement en plusieurs étapes, en commençant par identifier au moins un organe majeur atteint et d'attribuer des points en fonction des atteintes observées (clinique, biologie, imagerie, histologie). Parmi les critères biologiques, le taux d'IgG4 est toujours considéré.

Les performances de ces critères au sein d'une cohorte purement non asiatique n'ont pas encore été démontrées. Ainsi, nous avons cherché à rassembler une cohorte de patients diagnostiqués et suivis au CHU de Bordeaux pour MAG4 afin d'appliquer les nouveaux critères de classification. L'étude des données des patients nous a également permis d'analyser les différentes étiologies des hyper-IgG4, de discuter de la valeur du seuil retenu d'IgG4 circulantes pour établir le diagnostic et d'évaluer l'intérêt de son suivi dans la MAG4.

1. Introduction

La maladie associée aux IgG4 (MAG4) est une entité clinique relativement nouvelle, initialement décrite au Japon (Hamano *et al.* 2001) et maintenant mondialement reconnue. Elle implique une inflammation et un caractère fibrosant d'étiologie inconnue de plusieurs organes cibles. La physiopathologie de la maladie est encore largement méconnue.

Des critères diagnostiques avaient été établis spécifiquement par organe avant que ne soient proposés les critères CDC (*Comprehensive Diagnostic Criteria*) en 2011 (Umehara *et al.* 2012). Ces critères ont l'avantage d'être indépendants des organes principalement atteints. Le premier critère à considérer est l'observation d'une hypertrophie localisée ou diffuse au sein d'un ou plusieurs organes classiquement atteints dans la MAG4 (pancréas, voies biliaires glandes salivaires, glandes lacrymales, rétropéritoine, rein, aorte). Le second est une élévation du taux d'IgG4 sériques, supérieur à 1,35 g/L (seuil déterminé avec 95% de sensibilité et 97% de spécificité, par immunodiffusion radiale (Hamano *et al.* 2001)). Le troisième est histopathologique et doit monter une infiltration lympho-plasmocytaire polyclonale IgG4+ associée à une fibrose (ratio IgG4+/IgG+ > 40% et plus de 10 plasmocytes par champ à un fort grossissement doivent être observés). L'association des trois permet d'établir le caractère certain de la MAG4. Ces critères ne sont toutefois pas optimaux et d'autres auteurs ont notamment proposé de considérer également la réponse aux corticoïdes (Deshpande *et al.* 2012).

C'est ce qui a probablement en partie amené un groupe de travail international à rédiger les premiers critères de classification de la MAG4, présentés publiquement en 2018 au congrès annuel du Collège Américain de Rhumatologie (*American College of Rheumatology*, ACR). Bien que non encore publiés, les critères de classification soumis à l'ACR et l'EULAR (CCAE) ont été diffusés. Ce sont les premiers à intégrer des critères d'exclusion. Le groupe de travail a analysé 487 *case-reports* (272 patients diagnostiqués MAG4 et 215 patients avec des pathologies mimant la MAG4) pour obtenir les critères de classification et un système de cotation à points. Ces critères ont ensuite été validés à l'aide de 908 *case-reports* (493 patients MAG4 et 415 diagnostics mimant la MAG4). Leur étude montre sur les 1395 patients une sensibilité de 85,5% et une spécificité de 99,2%. Ces critères permettent *de facto* de prévenir l'inclusion de patients n'ayant pas de MAG4. La question est de savoir si cette classification aurait été utile au diagnostic des patients suivis au CHU de Bordeaux pour cette maladie.

La démarche diagnostique proposée par le groupe de travail consiste en un cheminement en plusieurs étapes, en commençant par identifier au moins un organe majeur atteint et d'attribuer des points en fonction des atteintes observées (clinique, biologie, imagerie, histologie). Parmi les critères biologique, le taux d'IgG4 est toujours considéré. En effet, le dosage des IgG4 reste un élément central puisqu'il peut correspondre à 10,8 points au maximum pour un diagnostic de certitude au-delà de 19 points.

Nous avons évalué les performances des critères ACR au sein d'une cohorte de patients diagnostiqués ou suivis pour une MAG4 au CHU de Bordeaux. Nous nous sommes interrogés sur l'intérêt du suivi du dosage des IgG4 chez ces patients et sur la significativité de la valeur seuil du taux d'IgG4. Nous avons ainsi analysé une cohorte différente du groupe MAG4 pour lesquels un ou plusieurs dosages d'IgG4 étaient supérieurs à 1,35 g/L afin de vérifier les étiologies de cette augmentation.

2. Matériels et méthodes

2.1. Critères de choix des patients

Les patients étudiés correspondent à trois groupes. Le premier comprend tous les patients considérés comme atteints de MAG4 selon le dossier du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information (dossier PMSI) du CHU de Bordeaux (groupe MAG4).

Le second correspond à tous les patients dont le dosage des sous-classes d'IgG a mis en évidence une augmentation des IgG4 sériques au-delà d'1,35 g/L, et n'appartenant pas au groupe MAG4 (groupe Hyper IgG4 non MAG4).

Enfin, un groupe de patients contrôles a été constitué pour la détermination du seuil de significativité du taux d'IgG4 dans la MAG4 : il comprend tous les patients ayant eu un ou plusieurs dosages d'IgG4 et n'appartenant pas au groupe MAG4.

2.2. Sélection des patients

Pour obtenir la liste des patients atteints de MAG4 (groupe MAG4) au CHU de Bordeaux, une demande d'analyse de données a été formulée auprès de la coordination et analyse de l'information médicale (UCAIM) après accord du président de la commission médicale d'établissement. Les extractions ont été effectuées à l'aide des codes de la classification internationale statistique des maladies et des problèmes de santé connexes (CIM-10). La période étudiée était du 1er janvier 2010 au 31 juillet 2019. Bien que la MAG4 n'ait pas encore de code au sein de cette classification, un sous-code intitulé « Syndrome d'hyper IgG4 » a été créé au CHU de Bordeaux. Il est intégré dans les diagnostics du groupe D89 correspondant aux « Autres anomalies du système immunitaire, non classées ailleurs », dans la catégorie D892 « Hypergammaglobulinémie, sans précision ».

Le groupe Hyper IgG4 non MAG4 et le groupe contrôle ont été obtenus à l'aide du système informatique du laboratoire (Synergy, TechniData, Montbonnot-Saint-Martin, France) : les taux des sous-classes d'IgG réalisés au laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique du CHU de Bordeaux entre le 1er janvier 2015 et le 31 juillet 2019 ont été extraits. Ces taux ont été déterminés par immunonéphélémétrie (Nephelometer BN™ II, Siemens, Munich, Allemagne) à partir des réactifs BS IgG Subclass (The Binding Site, Birmingham, Royaume-Uni). Pour notre étude, nous avons exclu les contrôles de qualité internes et externes, les analyses annulées par la revue de prescription, les analyses non rendues pour quantité insuffisante et les demandes non conformes. Les redondants ont été exclus en conservant les dossiers où la valeur des IgG4 était la plus élevée. Le groupe Hyper-IgG4 non MAG4 était composé de patients pour lesquels un taux d'IgG4 supérieur à 1,35 g/L a été observé.

2.3. Recueil des données relatives aux patients

Les dossiers médicaux des patients ont été analysés de façon rétrospective à l'aide du logiciel patient DxCare. Les données démographiques, cliniques, biologiques, d'imagerie et d'anatomopathologie ont pu être collectées. Le motif de prescription des sous-classes d'IgG et le diagnostic retenu ont également été colligés.

Pour chaque patient, les données suivantes ont été recueillies si disponibles : date de naissance, sexe, unité de prescription, l'année d'apparition des symptômes ou de signes évocateurs de la MAG4, la date à laquelle a été effectué le bilan où la MAG4 était suspectée, les éléments de biologie prélevés le même jour (leucocytes, polynucléaires éosinophiles, plaquettes, fibrinogène, créatinine, CRP, ASAT, ALAT, lipase, IgE totales, recherche d'anticorps anti-cytoplasme de polynucléaires neutrophiles (ANCA) et identification en cas de positivité, recherche d'anticorps anti-noyau avec aspect de la fluorescence si positive, recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles, la présence de cryoglobulines, IgG totales et les sous-classes IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4, activité fonctionnelle de la voie classique du complément CH50, fractions C3 et C4 du complément, le taux de lymphocytes B et de plasmablastes circulants). Les données cliniques de la MAG4 concernant les organes atteints ont été recherchées (glandes salivaires et lacrymales, pancréas/voies biliaires, thorax, rétropéritoine, reins, ganglions, tissus non typiquement retrouvés). La réponse au traitement par corticoïdes a également été relevée, ainsi que l'année où le diagnostic a finalement été retenu.

Les critères diagnostiques formulés en 2011 pour la MAG4 (*Comprehensive Diagnostic Criteria for IgG4-related disease* ou CDC (Umehara et Okazaki 2012)) ont été appliqués aux patients à partir des données disponibles afin de savoir si le diagnostic de MAG4 était certain, possible ou probable en date du diagnostic initial.

Les critères de classification proposés par le groupe de travail international à l'ACR et l'EULAR (CCAE) ont également été appliqués aux patients sélectionnés. Les critères cliniques, biologiques, radiologiques et histopathologiques d'exclusion de la maladie sont rappelés dans les tableaux 14 et 15 en annexe. Les comptes rendus des biopsies effectuées chez les patients ont été relus pour l'établissement des scores diagnostiques (en tenant compte de la localisation).

Le recueil et l'exploitation des données respectent la méthodologie de référence CNIL MR-004.

2.4. Evaluation du seuil IgG4 sérique historique à 1,35 g/L

La sensibilité (Se), la spécificité (Sp), la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) des seuils d'IgG4 ont été évaluées à partir du nombre de patients considérés « vrais négatifs » (VN), « vrais positifs » (VP), « faux négatifs » (FN), « faux positifs » (FP) ; et à l'aide des formules suivantes : Se = VP/(VP+FN), Sp = VN/(VN+FP), VPP = VP/(VP+FP), VPN = VN/(VN+FN). La construction des courbes *receiver operating characteristic* (ROC) a été réalisée en comprenant le groupe contrôle. Elles ont été construites à l'aide du logiciel GraphPad Prism v5.0.

Le ratio rapportant les IgG4 aux IgG totales a été réalisé en additionnant les dosages des quatre sous-classes pour obtenir le taux d'IgG totales.

2.5. Statistiques

La comparaison des critères de classification de MAG4 a été effectuée par le test statistique de McNemar avec correction de Yates. Les valeurs optimales du seuil IgG4 et du ratio IgG4/IgG totales ont été déterminées par analyses de ROC et d'aire sous la courbe (*area under curve*, AUC). Un test statistique de Friedman a été utilisé pour comparer la variation du taux d'IgG4 avant et après traitement.

Les résultats ont été considérés significatifs pour $p<0,05$. Les figures et les statistiques ont été obtenues par utilisation des logiciels Excel 2010 ou GraphPad Prism v.5.0.

3. Résultats

3.1. Définition des groupes de patients

3.1.1. Groupe MAG4

L'extraction des données du PMSI a permis de retrouver 38 patients catégorisés « Syndrome d'hyper IgG4 ». Le recueil des données nous a permis d'inclure 35 patients dans la cohorte. En effet, un patient a finalement été diagnostiqué avec une fasciite éosinophilique de Schulman et deux patients avaient été inscrits à tort (un déficit en IgG4 post-transplantation rénale et un neuro-lupus). Cinq patients ont été ajoutés grâce à l'analyse des dossiers patients ayant des IgG4 supérieures à 1,35 g/L (groupe Hyper-IgG4 non MAG4). Sur ces 40 patients, nous avons identifié deux patients ayant une cryoglobuline et deux patients ayant une vascularite associée aux ANCA de type MPO. Trente-six patients ne présentaient pas de critère d'exclusion CCAE. Trente-trois patients présentaient des critères d'inclusion selon les CCAE : les trois patients non inclus avaient respectivement un myélome IgG4 (confirmé par l'étude du gène en biologie moléculaire), une hépato-pancréatite non MAG4 sans étiologie (chez un très jeune enfant) et une pancréatite non auto-immune (certifiée par plusieurs biopsies et plusieurs lectures) (cf. Figure 1). Au final, le groupe MAG4 est donc constitué de 33 patients.

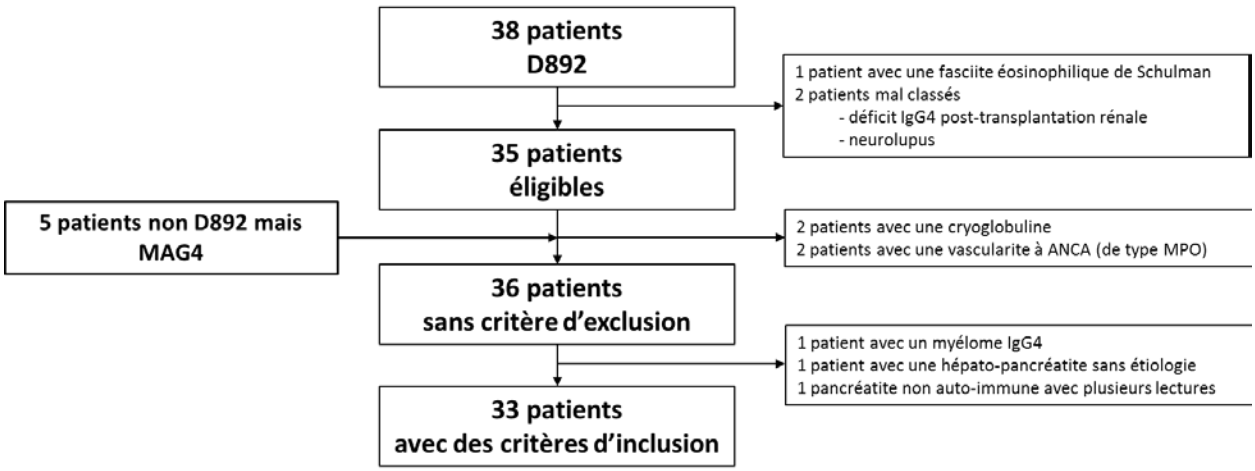


Figure 1 Etablissement du groupe MAG4 à partir de l'extraction du code D289 "Syndrome d'hyper IgG4" du PMSI et des dossiers patients ayant un taux d'IgG4 supérieur à 1,35 g/L, n = 33

3.1.2. Groupe Hyper-IgG4 non MAG4

L'extraction des données informatiques a permis de dénombrer 4824 demandes de dosages d'IgG4 du 1er janvier 2015 au 31 juillet 2019. Une demande a été enregistrée alors qu'il n'y avait pas de sérum et a donc fait l'objet d'une non-conformité d'échantillon (absence d'échantillon). Une demande a été refusée pour une non-conformité de délai par

rapport à la demande précédente qui était de moins de 8 jours. Ainsi, 4822 demandes d'analyse ont été effectuées sur la période d'étude.

Nous avons soustrait les contrôles de qualité internes et externes (254), les analyses annulées par la revue de prescription (749), les analyses non rendues pour cause de quantité insuffisante (3). Sur ces 3816 demandes retenues, 434 étaient strictement supérieures à 0,737 g/L (borne supérieure de normalité du laboratoire) et 161 demandes étaient strictement supérieures à 1,35 g/L. Ces dernières correspondaient à 133 patients. Nous avons exclu 14 patients issus d'hôpitaux extérieurs pour qui nous réalisons ce dosage de sous-classes et dont l'accès aux dossiers des patients est limité. Dix-sept patients avaient déjà été inclus dans le groupe MAG4. Après recueil des données, 5 patients sont atteints de MAG4 mais n'ont pas été identifiés par le sous-code intitulé « Syndrome d'hyper IgG4 » : ils ont été exclus de ce groupe et inclus dans le groupe MAG4 (*cf.* paragraphe précédent). Le groupe Hyper-IgG4 non MAG4 comptait ainsi 97 patients (Figure 2).

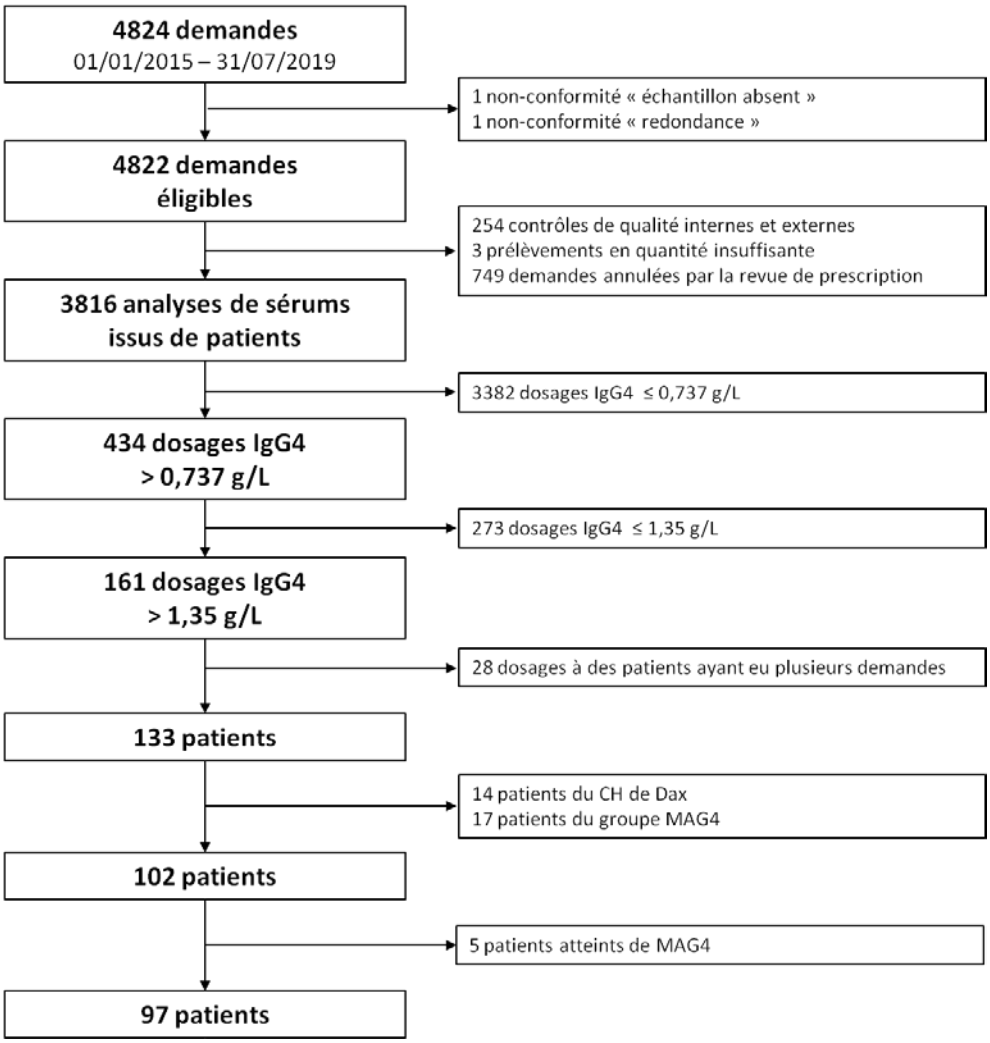


Figure 2 Etablissement du groupe Hyper-IgG4 non MAG4 à partir des demandes de dosages d'IgG4 au laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique du CHU de Bordeaux, n = 97

3.1.3. Groupe contrôle

Parmi les 3816 analyses de sérums effectuées au laboratoire, 3066 patients ont été inclus pour constituer le groupe contrôle. Le nombre de patients ayant un dosage > 0,737 g/L est de 294. Et le taux est supérieur à 1,35 g/L pour 85 d'entre eux (Figure 3). Le groupe contrôle comprend les patients du groupe Hyper-IgG4 non MAG4 et non suspectés d'être atteints de MAG4 après analyse des dossiers des patients.

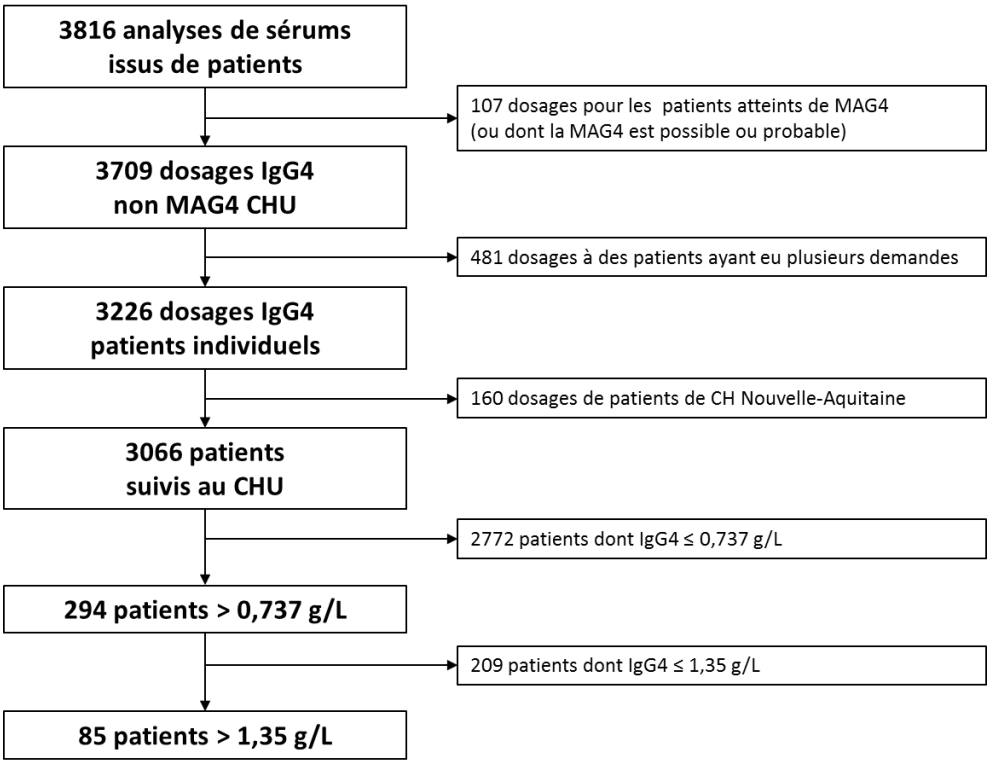


Figure 3 Etablissement du groupe contrôle n = 3069

3.2. Caractéristiques des patients

3.2.1. Groupe MAG4

Sur les 33 patients du groupe MAG4 (Tableau I), 30 sont des hommes et 3 sont des femmes (90,1% d'hommes, *sex ratio* 10,0). La moyenne d'âge au diagnostic était de 62,0 ans (médiane 64,0 ans, 24 – 84). La moyenne d'âge de déclaration des signes cliniques chez les patients était de 59,6 ans (médiane 60,0 ans ; 24 – 83). La moyenne d'âge des patients était de 64,0 ans (médiane 60,0 ans ; 32 – 86) lors de la rédaction du mémoire. Tous les patients étaient encore en vie au 31 juillet 2019. Ils étaient suivis depuis 3,3 ans en moyenne (médiane 3,0 ans ; 0 – 11 ans). Le nombre d'années entre l'apparition estimée des symptômes cliniques et l'établissement du diagnostic était de 2,4 ans (Figure 4).

Tableau I (*cf.* page suivante) Données concernant les patients du groupe MAG4. Pour chaque patient, nous retrouvons par colonne de gauche à droite : la date de naissance, le sexe (H = homme, F = Femme), l'année du diagnostic de MAG4 et l'âge du patient correspondant, l'année estimée de survenue des symptômes cliniques et l'âge correspondant du patient, le délai diagnostique (différence entre l'âge au diagnostic et l'année estimée de survenue des premiers symptômes), la survenue d'une rechute après initiation d'un traitement efficace, le service ayant posé le diagnostic et/ou effectuant le suivi (MI = Médecine interne, N = Néphrologie, HGE = Hépato-Gastro-Entérologie, R = Rhumatologie), les taux en g/L des sous-classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4), la somme des quatre sous-classes (IgGs), le ratio IgG4/IgGs en pourcentage, le ou les organes atteint(s) au diagnostic (G = glandes salivaires et/ou lacrymales, R = rétropéritoine, K = rein, P = pancréas ± voies biliaires, A = aorte/périaorte), si les IgG4 sont augmentées (supérieures à 1,35 g/L), les résultats de la biopsie conformément aux critères CDC (0 = non contributif car mauvais organe biopsié, pas de marquage IgG4…, a = infiltration lymphocytaire et plasmocytaire polyclonale marquée + fibrose, b = infiltration par des plasmocytes IgG4 positifs avec ratio IgG4+/IgG+ > 40% et > 10 plasmocytes IgG4+ par champ au fort grossissement), les critères CDC retenus pour établir le diagnostic certain (1+2+3), probable (1+3) ou possible (1+2) de MAG4, le nombre de points cotés en fonction des critères de classification CCAE (tableau des points disponible en annexe, Tableau 14), l'absence de critère d'exclusion et le nombre de points total obtenu (diagnostic certain si plus de 19 points).

Tableau I Données concernant les patients du groupe MAG4.

Patient	Date de naissance	Sexe	Année du diagnostic	Age au diagnostic	Année estimée	Age estimé	Délai dgstq	Rechute	Service	IgG1 (g/L)	IgG2 (g/L)	IgG3 (g/L)	IgG4 (g/L)	IgGs	ratio (%)	Organe	IgG4 ↑	Histologie	CDC Total	IgG4	Histo	G	A	P	K	R	Exclusion	ACR Total
Patient 1	12/03/1987	H	2011	24	2011	24	0	Oui	MI	7,08	4,76	0,582	1,14	13,6	8,4	G	N	a	1+3	3,7	13,3	5,9	0	0	0	0	AUCUN	22,9
Patient 2	22/02/1944	H	2016	72	2016	72	0	Non	MI	5,95	4,28	0,221	1,19	11,6	10,2	R	N	Non fait	1	3,7	0	0	0	0	0	7,8	AUCUN	11,5
Patient 3	02/09/1944	H	2013	69	2013	69	0	Non	MI	7,38	6,88	0,854	1,08	16,2	6,7	K	N	a	1+3	3,7	6,1	0	3,8	0	8,1	4,1	AUCUN	25,8
Patient 4	21/02/1949	H	2018	69	2017	68	1	Non	N	10,40	7,08	1,27	6,16	24,91	24,73	K	O	a+b	1+2+3	10,8	6,1	5,9	0	0	8,1	0	AUCUN	30,9
Patient 5	24/01/1938	H	2017	79	2016	78	1	Non	MI	5,07	6,33	0,414	1,64	13,5	12,2	R	O	Non fait	1+2	6,1	0	0	0	0	0	4,1	AUCUN	10,2
Patient 6	18/07/1943	H	2018	75	2001	58	17	Non	MI	4,15	3,51	0,325	1,68	9,7	17,4	G	O	a+b	1+2+3	6,1	3,7	13,8	0	0	0	0	AUCUN	23,6
Patient 7	19/12/1946	H	2018	71	2017	70	1	Oui	MI	8,49	7,02	0,729	2,86	19,10	14,97	P	O	a+b	1+2+3	6,1	6,1	0	0	18,7	0	0	AUCUN	30,9
Patient 8	04/10/1959	H	2016	57	2015	56	1	Oui	MI	8,85	4,31	0,373	2,3	15,8	14,5	A	O	a+b	1+2+3	6,1	3,7	0	9,8	0	0	0	AUCUN	19,6
Patient 9	22/01/1955	H	2016	61	2015	60	1	Non	MI	10,3	10,68	1,33	4,8	27,1	17,7	R	O	0	1+2	10,8	0	0	0	0	0	7,8	AUCUN	18,6
Patient 10	06/07/1949	H	2018	69	2008	59	10	Oui	MI	4,44	5,77	0,314	5,73	16,3	35,3	G	O	a+b	1+2+3	10,8	3,7	13,8	0	0	0	0	AUCUN	28,3
Patient 11	07/03/1944	H	2015	71	2007	63	8	Oui	MI	9,53	7,78	1,37	5,96	24,6	24,2	P	O	a+b	1+2+3	10,8	3,7	0	0	18,7	0	0	AUCUN	33,2
Patient 12	25/09/1958	H	2017	59	2007	49	10	Oui	MI	12	4,56	0,598	1,43	18,6	7,7	A	O	0	2	3,7	0	0	0	0	0	0	AUCUN	3,7
Patient 13	29/04/1948	F	2019	71	2014	66	5	Oui	MI	12,5	5,88	1,02	1,35	20,8	6,5	G	O	0	1+2	3,7	3,7	5,9	0	0	0	0	AUCUN	13,3
Patient 14	19/03/1944	F	2019	75	2018	74	1	Oui	MI	9,88	7,32	0,961	1,51	19,7	7,7	R	O	0	2	3,7	0	0	0	0	0	0	AUCUN	3,7
Patient 15	22/06/1941	H	2013	72	2013	72	0	Oui	MI	6,11	6,58	0,728	3,06	16,5	18,6	P	O	Non fait	1+2	6,1	0	0	0	18,7	0	0	AUCUN	24,8
Patient 16	18/06/1933	H	2017	84	2016	83	1	Oui	MI	7,29	3,59	0,764	1,21	12,9	9,4	G	N	a+b	1+3	3,7	6,1	13,8	0	0	0	0	AUCUN	23,6
Patient 17	05/11/1943	H	2015	72	2011	68	4	Oui	HGE	10,4	4,78	0,565	2,45	18,2	13,5	P	O	a	1+2	6,1	3,7	0	0	18,7	0	0	AUCUN	28,5
Patient 18	01/01/1954	H	2014	60	2014	60	0	Non	MI	5,95	4,66	0,146	3,30	14,06	23,48	P	O	Non fait	1+2	6,1	0	0	0	8	0	0	AUCUN	14,1
Patient 19	30/07/1989	H	2013	24	2013	24	0	Non	MI	12,9	4,39	0,738	0,794	18,8	4,2	R	N	a	1+3	3,7	6,1	5,9	0	0	0	7,8	AUCUN	23,5
Patient 20	09/12/1961	H	2012	51	2012	51	0	Non	MI	4,63	2,36	0,894	0,127	8,0	1,6	R	N	a	1+3	0	3,7	0	0	0	0	7,8	AUCUN	11,5
Patient 21	17/02/1951	H	2014	63	2011	60	3	Non	HGE	11,6	5,92	1,06	6,2	24,8	25,0	P	O	a+b	1+2+3	10,8	3,7	0	0	8	0	0	AUCUN	22,5
Patient 22	13/12/1949	H	2018	68	2015	65	3	Non	R	6,39	5,26	0,66	4,44	16,75	26,51	P+K	O	a+b	1+2+3	10,8	13,3	0	0	18,7	8,1	0	AUCUN	50,9
Patient 23	03/12/1936	H	2018	81	2008	71	10	Oui	MI	7,97	8,62	1,01	8,13	25,73	31,60	P	O	a	1+2+3	10,8	3,7	0	0	18,7	0	0	AUCUN	33,2
Patient 24	16/09/1961	H	2019	58	2018	57	1	Non	MI	8,69	9,39	1,07	5,13	24,3	21,1	G	O	a+b	1+2+3	10,8	13,3	5,9	0	0	0	0	AUCUN	30
Patient 25	17/11/1952	H	2016	64	2016	64	0	Oui	MI	6,74	3,74	0,36	3,3	14,1	23,3	G	O	a+b	1+2+3	6,1	13,3	5,9	0	0	0	7,8	AUCUN	33,1
Patient 26	13/03/1973	H	2018	45	2017	44	1	Non	MI	-	-	-	2	2,0	-	R	O	Non fait	1+2	3,7	0	0	0	0	0	7,8	AUCUN	11,5
Patient 27	25/08/1963	H	2009	46	2008	45	1	Non	MI	6,68	4,23	0,7	2,31	13,9	16,6	R	O	a+b	1+2+3	3,7	13,3	0	0	0	0	7,8	AUCUN	24,8
Patient 28	04/09/1935	H	2013	78	2013	78	0	Oui	HGE	15	11,6	1,18	7,83	35,6	22,0	P	O	a	1+2	6,1	3,7	0	0	8	0	7,8	AUCUN	25,6
Patient 29	02/11/1971	H	2016	45	2016	45	0	Non	MI	6,55	5,24	0,348	1	13,1	7,6	R	N	a+b	1+3	3,7	3,7	0	3,8	0	0	7,8	AUCUN	19
Patient 30	01/09/1955	F	2015	60	2015	60	0	Non	HGE	6,85	6,48	0,723	0,739	14,8	5,0	A	N	a	3	3,7	3,7	0	0	0	0	0	AUCUN	7,4
Patient 31	19/10/1964	H	2016	52	2016	52	0	Non	MI	7,38	5,52	0,788	2,35	16,0	14,7	R	O	a+b	1+2+3	6,1	3,7	0	0	0	0	0	AUCUN	9,8
Patient 32	17/06/1974	H	2016	42	2016	42	0	Oui	MI	5,87	5,44	0,725	2,76	14,8	18,7	G	O	a+b	1+2+3	6,1	6,1	13,8	0	0	0	0	AUCUN	26
Patient 33	24/02/1956	H	2015	59	2015	59	0	Non	MI	7,43	16,6	3,22	10,8	38,1	28,4	G	O	a+b	1+2+3	6,1	6,1	13,8	0	0	0	0	AUCUN	26

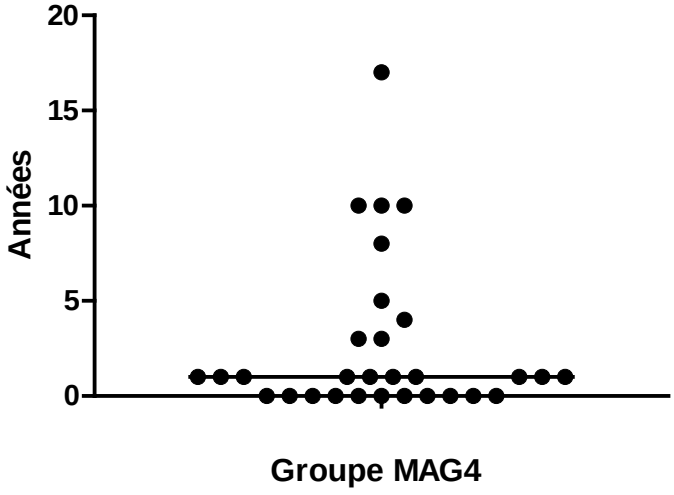


Figure 4 Nombre d'années entre l'apparition estimée des symptômes cliniques et l'établissement du diagnostic de MAG4, n = 33, moyenne = 2,4 années, médiane (barre horizontale) = 1,0 année (0 – 17)

Ces patients étaient suivis par quatre spécialités : la médecine interne pour 27 patients (82%) et l'hépato-gastro-entérologie pour 4 patients (12%), les services de rhumatologie et de néphrologie pour 1 patient chacun (3%).

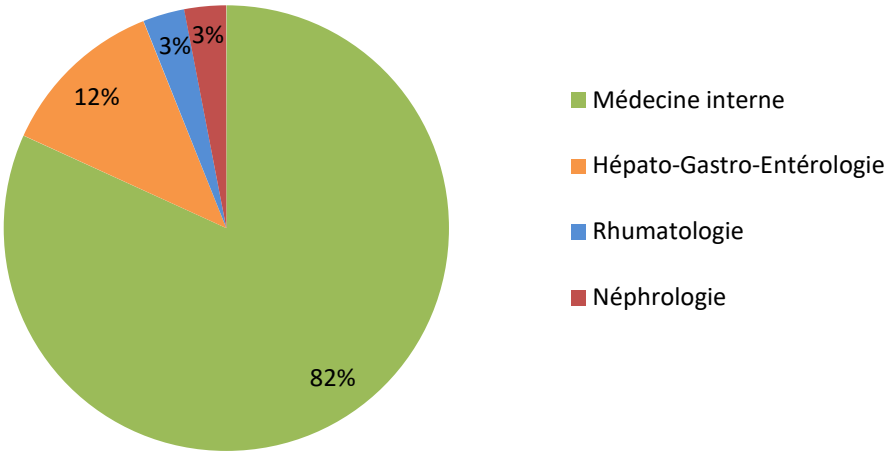


Figure 5 Répartition des spécialités où sont suivis les patients du groupe MAG4

Les paramètres d'hématologie et de biochimie relevés étaient globalement normaux (Annexes et données complémentaires, Figure S14). Concernant les analyses effectuées au laboratoire d'hématologie, les globules blancs avaient un taux médian de 7,75 G/L (3,64 – 12 G/L), les polynucléaires éosinophiles un taux médian de 0,26 G/L (0,09 – 1,60 G/L), les plaquettes un taux médian de 248 G/L (132 – 531 G/L) et le fibrinogène un taux médian de 5,3 g/L (2,7 – 8,0 g/L). Concernant les paramètres de biochimie, la créatinine avait un taux médian de 83 µmol/L (31 – 242 µmol/L), la CRP un taux médian de 3,2 mg/L (0,2 – 88,5 mg/L), les transaminases ASAT un taux médian de 25 U/L (14 – 248 U/L) et ALAT un taux médian de 27 U/L (<6 – 398 U/L) (Annexe Figure 14). La lipase et l'amylase n'avaient pas été dosées chez suffisamment de patients pour permettre une étude significative. La recherche d'anticorps anti-noyau était négative (12 patients) ou positive à faible titre (17 patients) en immunofluorescence indirecte sur cellules Hep-2 mais sans spécificité retrouvée anti-antigène soluble du noyau (anti-ENA). L'exploration du complément avait relevé un CH50 médian de 78% (66 – 99 %), un taux médian de C3 à 1,23 g/L (0,54 – 1,98 g/L) et de C4 à 0,26 g/L (0,08 – 0,51 g/L). L'immunophénotypage lymphocytaire n'ayant pas été réalisé chez suffisamment de patients, les taux de lymphocytes B n'était pas pertinent. L'exploration des sous-populations lymphocytaires B n'avait été réalisée chez aucun patient au diagnostic, aussi nous n'avions pas de résultat pour les plasmablastes circulants. L'ensemble des résultats sont présentées dans la partie « Annexes et données complémentaires » (Tableau SXV).

3.2.2. Groupe Hyper-IgG4 non MAG4

Parmi les 97 patients, nous retrouvions 64 hommes et 33 femmes (66% d'hommes, *sex ratio* 1,9). La moyenne d'âge lors de la réalisation du dosage des sous-classes d'IgG était de 46,1 ans (médiane : 49,0 ans, 5 – 82). Le taux moyen d'IgG totales était de 15,9 g/L (6,9 – 37,2). Soixante-et-un patients (62,2%) présentaient un taux d'IgG supérieur à la valeur normale supérieure (12,8 g/L) et avaient donc un taux d'IgG totales augmentées. Par définition du groupe, un taux d'IgG4 strictement supérieur à 1,35 g/L était présent chez tous les patients. La moyenne de ce taux était de 2,63 g/L (1,36 – 14,7).

Nous pouvions distinguer plusieurs spécialités prescriptrices (cf. Figure 6). La médecine interne était le service ayant prescrit le plus avec 41 patients (42%), suivi de la pneumologie avec 18 patients (19%), de la pédiatrie avec 13 patients (14%), puis les services de neurologie et dermatologie avec 5 patients (5%), la néphrologie et l'hépato-gastro-entérologie avec 4 patients (4%), et les autres services représentant 7 patients (7%). Ces spécialités comprenaient la cardiologie, l'hématologie clinique, l'ophtalmologie, les urgences adultes et le centre de prélèvements adultes pour un médecin généraliste.

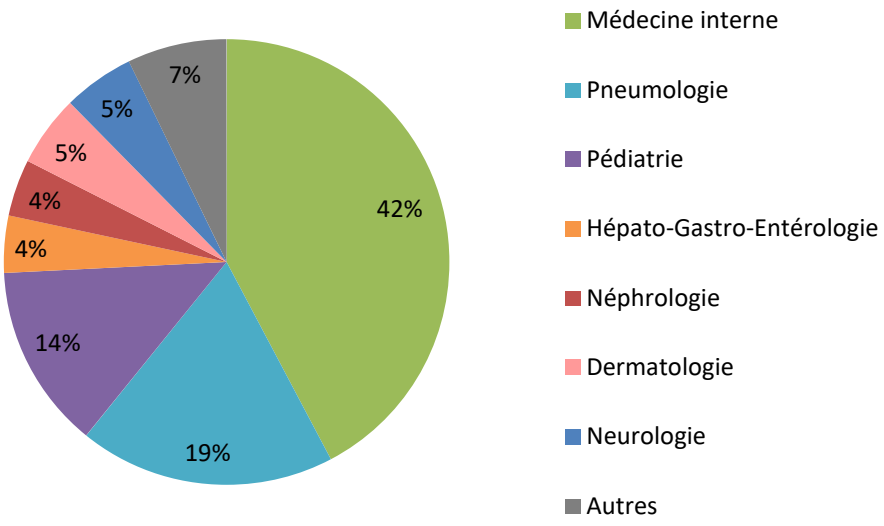


Figure 6 Répartition des services prescripteurs du groupe Hyper-IgG4 non MAG4

Les motifs de prescription de l'analyse des sous-classes d'IgG sont présentés dans le tableau II. La suspicion de déficit immunitaire (primaire ou secondaire) est la première indication dans ce groupe avec 47 patients (48,5%). La suspicion de MAG4 était le motif pour 17 patients (18,5%) et l'exploration d'une hypergammaglobulinémie pour 16 patients (16,5%). La raison n'était pas clairement définie pour 17 patients (17,5%) et donc classée « autres ».

Tableau II Indications cliniques du dosage des sous-classes d'IgG chez les patients retrouvant des IgG4 supérieures à 1,35 g/L. n total = 97

	% (n)
Suspicion de déficit immunitaire primaire ou secondaire	48,5% (47)
Suspicion de MAG4	17,5% (17)
Exploration d'une hypergammaglobulinémie	16,5% (16)
Autres	17,5% (17)

3.2.3. Groupe contrôle

Ce groupe comprenait 1403 hommes et 1663 femmes (45% d'hommes, sex ratio 0,8). La moyenne d'âge lors de la réalisation du dosage des sous-classes d'IgG était de 40,1 ans (médiane : 44,0 ans, 0,5 – 96). Le taux moyen de la somme des sous-classes IgG était de 9,5 g/L (médiane : 8,8 g/L ; 0,229 – 70,297). La moyenne du taux d'IgG4 était de 0,325 g/L (médiane : 0,194 g/L ; 0 – 14,7).

3.3. Les formes cliniques de la MAG4 chez les patients suivis au CHU de Bordeaux

Au sein de notre groupe MAG4 constitué de 28 patients, les atteintes pancréatiques (+/- voies biliaires) et rétropéritonéales étaient les plus fréquentes avec 9 patients (27,3%), suivies des atteintes des glandes lacrymales et/ou salivaires avec 8 patients (24,2%). Les atteintes rénales et ganglionnaires représentaient chacune 4 patients (12,1%) et celles aortique et/ou périaortique, 3 patients (9,1%). Cinq patients (12,5%) avaient des localisations atypiques comprenant l'œsophage, les sinus, le larynx, la thyroïde, les poumons ou encore la peau (Tableau III).

Tableau III Répartition des atteintes de tissus chez les patients atteints de MAG4 suivis au CHU de Bordeaux. n total = 33

	% (n)
Atteinte des glandes lacrymales et/ou salivaires	24,2% (8)
Atteinte aortique et/ ou périaortique	9,1% (3)
Atteinte pancréatique et/ou des voies biliaires	27,3 % (9)
Atteinte rénale	12,1% (4)
Atteinte rétropéritonéale	27,3% (9)
Atteinte ganglionnaire	12,1% (4)
Autres	15,2% (5)

3.4. Comparaison des critères diagnostiques CDC *vs* CCAE pour le groupe « MAG4 »

L'application des critères diagnostiques CDC au groupe MAG4 avait permis d'obtenir 15 patients (45,5%) avec un diagnostic certain, 6 patients (18,2%) avec un diagnostic probable, 8 patients (24,2%) avec un diagnostic possible et 4 patients qui ne présentaient que l'un des trois critères principaux et n'entraient donc pas dans la classification CDC (Tableau IV).

Pour les 8 patients avec un diagnostic possible, 4 patients n'avaient pas eu de biopsie (2 pour des raisons de risque hémorragique et 2 car l'imagerie était suffisante pour conclure en faveur d'une atteinte pancréatique typique), 3 patients avaient eu des biopsies difficilement interprétables avec conclusion équivoque et 1 patient avait eu une biopsie ne provenant pas du tissu atteint.

Tableau IV Critères diagnostiques CDC appliqués au groupe MAG4. n total = 33

	% (n)
Certain	45,5% (15)
Probable	18,2% (6)
Possible	24,2% (8)
Autre	12,1% (4)

L'application des critères CCAE (Annexes et données complémentaires, Tableaux SXIII et SXIV) au groupe MAG4 avait permis d'identifier 22 patients (66,7%) avec plus de 19 points et donc un diagnostic certain, 9 patients (27,3%) avec un nombre de points entre 7,4 et 19 soit un diagnostic probable ou possible et 2 patients avec moins de 4 points (Tableau V et Figure 7).

Pour les 11 patients (33,3%) n'ayant pas 19 points ou plus, la médiane du score était de 11,5. Nous retrouvions 6 patients (54,5%) qui n'avaient pas bénéficié de biopsie (dont 4 avec une atteinte rétropéritonéale, 1 avec une atteinte pancréatique et 1 avec une atteinte rénale) ; 4 patients (36,4%) avec des atteintes à localisation atypique (ganglions inguinaux ou médiastinaux, œsophage et thyroïde) ; et 1 patient (10%) n'ayant pas les IgG4 sériques augmentées (y compris par rapport aux bornes du laboratoire).

Tableau V Critères de classification CCAE appliqués au groupe MAG4. n total = 33

	% (n)
Certain	66,7% (22)
Probable / Possible	27,3% (9)
Autre	6% (2)

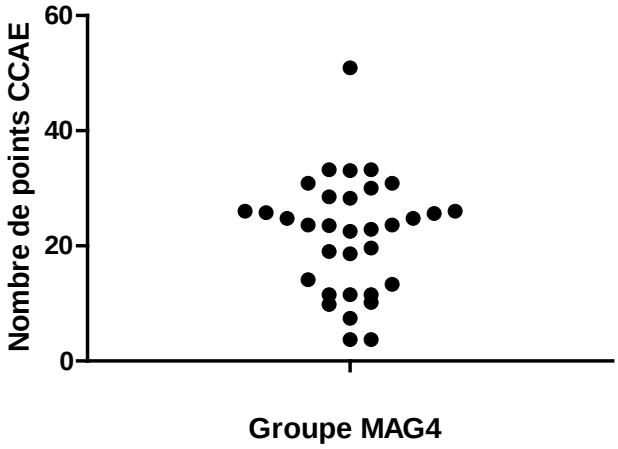


Figure 7 Répartition du nombre de points selon les critères CCAE pour le groupe MAG4, n = 33

Aussi, afin de comparer la performance des critères CCAE, nous obtenions le tableau de contingence ci-dessous (Tableau VI). Nous observions 19 diagnostics concordants et 9 discordants. A l'aide du test de McNemar avec correction de Yates, nous retrouvions une différence significative $p < 0,05$ ($p=0,0455$) entre les résultats obtenus par les deux

classifications. Les critères de classification proposés par l'ACR et L'EULAR semblent donc plus à même de poser le diagnostic de certitude de MAG4.

Tableau VI Tableau comparatif des critères de classification pour la MAG4. CCAE, critères de classification ACR/EULAR, « 19 » correspondant au nombre de points nécessaires pour poser le diagnostic de MAG4, CDC, *comprehensive diagnostic criteria*

	>19 CCAE	<19 CCAE	Total
Certain CDC	14	1	15
Non certain CDC	8	10	18
Total	22	11	33

3.5. Etiologies du groupe « Hyper-IgG4 Non MAG4 »

Les diagnostics posés chez les patients de ce groupe avec des IgG4 supérieures à 1,35 g/L ont été séparés en différentes catégories présentées dans le tableau VII.

Tableau VII Répartition des diagnostics du groupe Hyper-IgG4 non MAG4. n = 97

	% (n)
Pas de diagnostic définitif	38,1% (37)
Infections	15,5% (15)
Cancer	12,4% (12)
MAG4 possible/probable	10,3% (10)
Vascularite	4,1% (4)
Gammapathie monoclonale	4,1% (4)
Granulomatose éosinophilique avec polyangéite	4,1% (4)
Cirrhose	3,1% (3)
Autres	8,2% (8)

Aucun diagnostic n'a été établi pour 37 patients (38,1%) : les présentations cliniques ou les éventuels résultats d'imagerie ne correspondaient pas à celle d'une MAG4. Un caractère infectieux a été trouvé chez 15 patients (15,5%). Les foyers infectieux (pneumopathies, pyélonéphrites, infections cutanées, sinusites, chocs septiques) et les agents infectieux bactériens (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* porteur de leucocidine de Panton-Valentine, *Francisella tularensis*), viraux (*Varicella Zoster Virus*, Virus de l'hépatite B) ou parasitaire (*Schistosoma mansoni*) responsables étaient variables. Un cancer (lymphome, carcinome, mélanome, séminome) a été diagnostiqué chez 12 patients (12,4%). Une gammapathie monoclonale de type IgG4, une vascularite (à ANCA ou cryoglobulinémique) ou une granulomatose éosinophilique avec polyangéite ont été identifiées chacune chez 4 patients (4,1%). C'est dans la gammapathie monoclonale que le taux d'IgG4 est significativement très augmenté (Figure 8). Une cirrhose (éthylique) a été retenue pour 3 patients (3,1%). Les autres entités cliniques (sclérose en plaques, rectocolite hémorragique, sarcoïdose, diabète de type 1, spondylarthrite

ankylosante, rejet de greffe de moelle osseuse chronique, fasciite à éosinophiles, déficit en α1-antitrypsine) constituent 8,2% des diagnostics (8 patients).

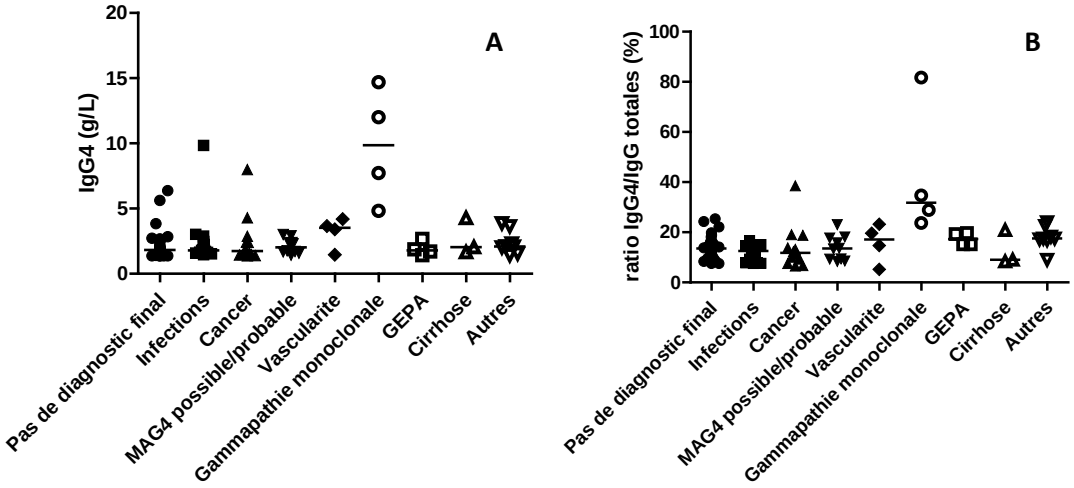


Figure 8 Répartition des étiologies pour le groupe Hyper-IgG4 non MAG4. A – Taux d'IgG4 sérique en fonction du groupe de pathologies. **B – Taux d'IgG4 rapporté à la somme des sous-classes d'IgG en fonction du groupe de pathologies (%).** Les barres horizontales représentent la valeur médiane pour chaque sous-groupe. GEPA = granulomatose éosinophilique avec polyangéite.

Une MAG4 était suspectée pour 10 patients (10,3%). Les atteintes cliniques retrouvées sont les suivantes : 4 patients avec atteinte pancréatique (+/- voies biliaires), 3 patients avec une atteinte des glandes lacrymales et/ou salivaires, 1 patient avec atteinte rétropéritonéale, 1 patient avec atteinte rénale et 1 patient avec une localisation atypique qui serait la rate. Cependant, 2 présentaient des critères d'exclusion CCAE (ANCA de type MPO et cryoglobulines). Parmi les 8 patients restants, 5 n'avaient pas bénéficié de biopsie, 3 avaient donc une biopsie mais l'immunomarquage IgG4 n'a pas été réalisé sur 2 de ces biopsies. Leur taux d'IgG4 était augmenté (moyenne : 2,1 g/L, médiane 2,0 g/L). Le diagnostic de MAG4 n'a pas été établi avec certitude pour ces patients.

L'analyse de cette cohorte nous montre que le taux d'IgG4 à 1,35 g/L n'est pas pathognomonique de MAG4. De plus, les patients ayant présenté une augmentation des IgG4 supérieure à 1,35 g/L durant la période de l'étude n'ont pas été diagnostiqués à tort ou sous-diagnostiqués pour la MAG4

3.6. Pertinence du seuil du taux d'IgG4 et du ratio IgG4/IgG totales dans la MAG4

3.6.1. Détermination du seuil optimal diagnostique du taux d'IgG4 sériques dans la MAG4

Si nous considérons le groupe MAG4 comprenant 33 patients, 32 patients (97,0%) avaient au diagnostic de la maladie, un taux d'IgG4 plus élevé que notre borne supérieure du laboratoire (0,737 g/L) et 25 patients (75,8%) ayant même un taux supérieur à 1,35 g/L. Le taux moyen était de 3,24 g/L (médiane 2,35 g/L, 0,127 – 10,8) alors que celui du groupe contrôle était de 0,335 g/L (médiane : 0,189 g/L) (Figure 9).

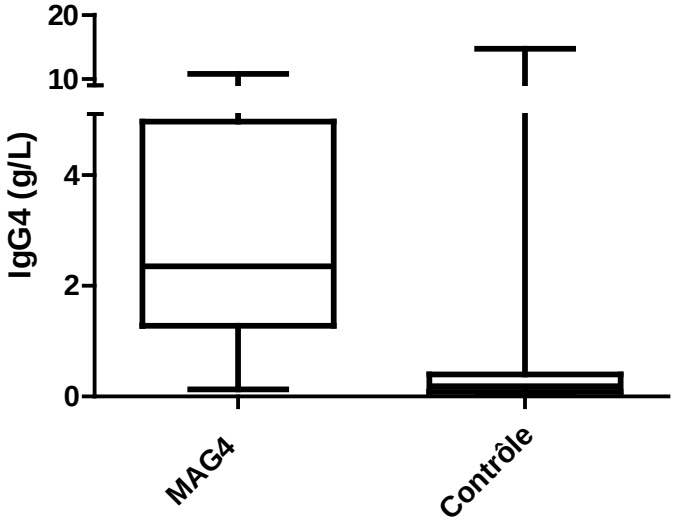


Figure 9 Boîtes à moustaches de la répartition du taux d'IgG4 dans les deux groupes MAG4 et Contrôle, minimum, maximum, médiane

Nous avons tout d'abord considéré le seuil d'1,35 g/L. Le tableau de contingence entre le groupe MAG4 et le groupe contrôle (Tableau VIII) permet de définir respectivement une Se, une Sp, une VPP et une VPN de 75,6 ; 97,2 ; 22,7 et 99,7%. La sensibilité est moyenne et le VPP excellente.

Tableau VIII Tableau de contingence des patients MAG4 et contrôle en fonction du seuil d'IgG4 d'1,35 g/L. n total = 3099

	> 1,35	≤ 1,35	Total
MAG4	25	8	33
Non MAG4	85	2981	3066
Total	110	2989	3099

Ce seuil d'1,35 g/L est celui retenu par les critères CDC. Toutefois dans les critères CCAE, le nombre de points attribués pour le critère « dosage des IgG4 » commence dès que la borne supérieure du laboratoire est dépassée. Donc nous avons procédé à la même façon avec le seuil de 0,737 g/L (Tableau IX). La Se, Sp, VPP et VPN de ce seuil sont respectivement de 96,7 ; 90,4 ; 9,8 et 99,9%.

Tableau IX Tableau de contingence des patients MAG4 et contrôle en fonction du seuil d'IgG4 de 0,737 g/L. n total = 3099

	> 0,737	≤ 0,737	Total
MAG4	32	1	33
Non MAG4	294	2772	3066
Total	326	2773	3099

Nous avons établi la courbe ROC pour la MAG4 (Figure 10). La valeur seuil optimale de notre cohorte est de 0,9995 g/L d'IgG4 où la sensibilité est de 90,9% (intervalle de confiance IC = 75,7 à 98,1%) et la spécificité de 95,0% (intervalle de confiance IC = 94,1 à 95,7%) selon le tableau de contingence réalisé (Tableau X). Nous avons donc retenu un seuil supérieur ou égal à 1,00 g/L. Appliqué à la cohorte MAG4, cela correspond à 30 patients. La VPP et la VPN de ce seuil sont de 16,3 et 99,9%, respectivement.

En considérant les extrêmes de la courbe ROC, au seuil de 0,127 g/L la sensibilité est de 100% et la spécificité est de 37,6% ; au seuil de 8,1 g/l, la spécificité supérieure à 99,9% et la sensibilité est de 6,1%.

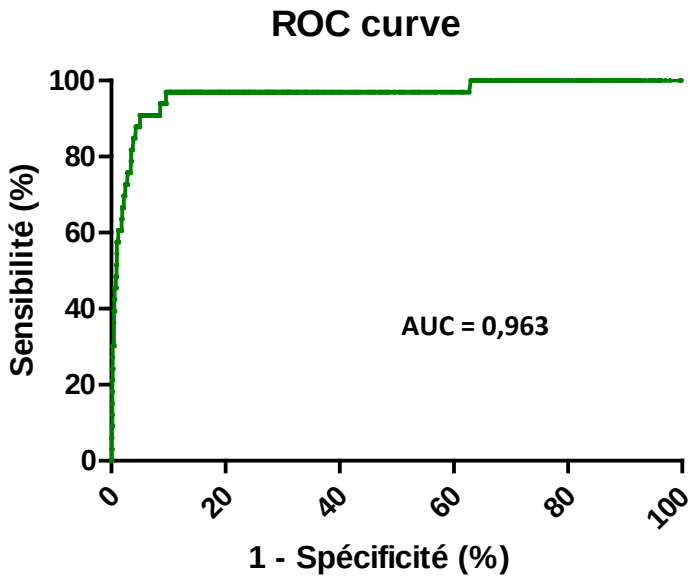


Figure 10 Courbe ROC pour les taux d'IgG4 dans le diagnostic de MAG4. AUC = *area under curve* ou aire sous la courbe, ROC = *receiver operating characteristic curve*. Intervalle de confiance à 95% = 0,92266-0,9999 ; p<0,0001

Tableau X Tableau de contingence des patients MAG4 et non MAG4 en fonction du seuil d'IgG4 de 1,00 g/L. n total = 3099

	≥ 1,00	< 1,00	Total
MAG4	30	3	33
Non MAG4	154	2912	3066
Total	184	2915	3099

3.6.2. Détermination du ratio IgG4/IgG totales

Nous avons voulu évaluer la valeur du ratio IgG4/IgG totales optimal au diagnostic. Les IgG totales sont le résultat de la somme des 4 sous-classes d'IgG dosées (IgGs).

Dans le groupe MAG4, le ratio moyen est de 0,162 soit 16,2% et la médiane de 0,158 soit 15,8% au diagnostic. Nous n'avons que 32 valeurs car un patient n'avait que le dosage d'IgG4 d'effectué sans les autres sous-classes.

Tous les autres patients, considérés sans MAG4 (groupe contrôle) ont un taux moyen d'IgG4 de 0,335 g/L (médiane : 0,189 g/L) et un ratio moyen de 0,033 soit 3,3% (médiane : 0,022 soit 2,2%). La courbe ROC résultant de ces données est présentée Figure 11.

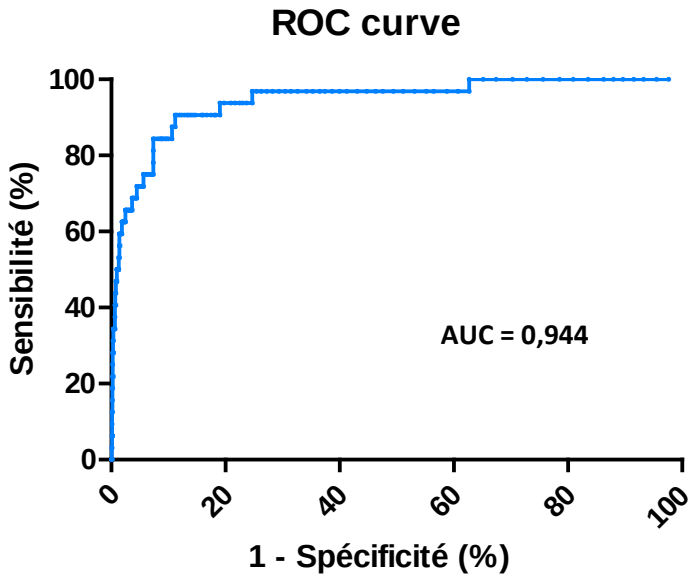


Figure 11 Courbe ROC pour les ratios IgG4/IgGs dans le diagnostic de MAG4. AUC = *area under curve* ou aire sous la courbe, ROC = *receiver operating characteristic curve*. Intervalle de confiance à 95% = 0,9034-0,9849. p<0,0001.

Aussi la valeur seuil optimale du ratio de notre cohorte est de 0,0650 soit 6,5% où la sensibilité est de 90,6% et la spécificité de 88,8%. Ces performances sont moindres que celle du dosage des IgG4, comme le confirme la superposition des deux courbes ROC (Figure 12).

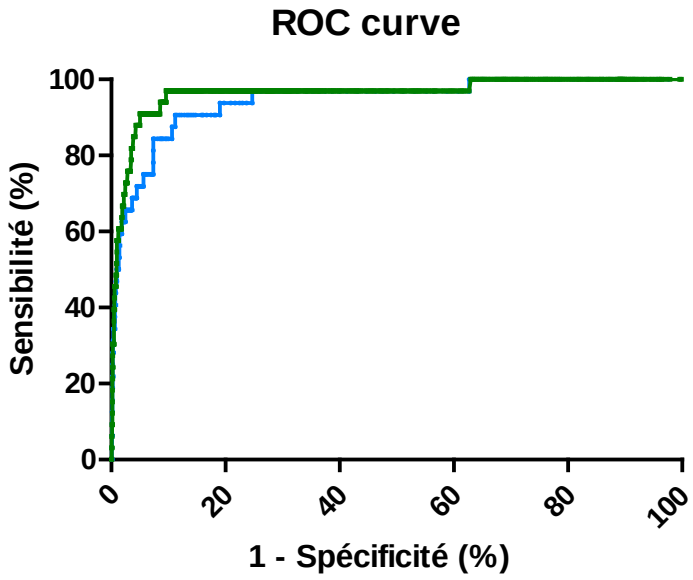


Figure 12 Superposition des courbes ROC pour les taux d'IgG4 et les ratios IgG4/IgGs dans le diagnostic de MAG4. AUC = *area under curve* ou aire sous la courbe, ROC = *receiver operating characteristic curve*.

3.7. Intérêt du suivi du taux d'IgG4 dans la MAG4

A partir des données du groupe MAG4, nous avons choisi de présenter le suivi de 7 patients dont nous disposions de suffisamment de données (Tableau XI).

Une bonne réponse clinique au traitement semble s'accompagner d'une diminution du taux d'IgG4 (Figure 13).

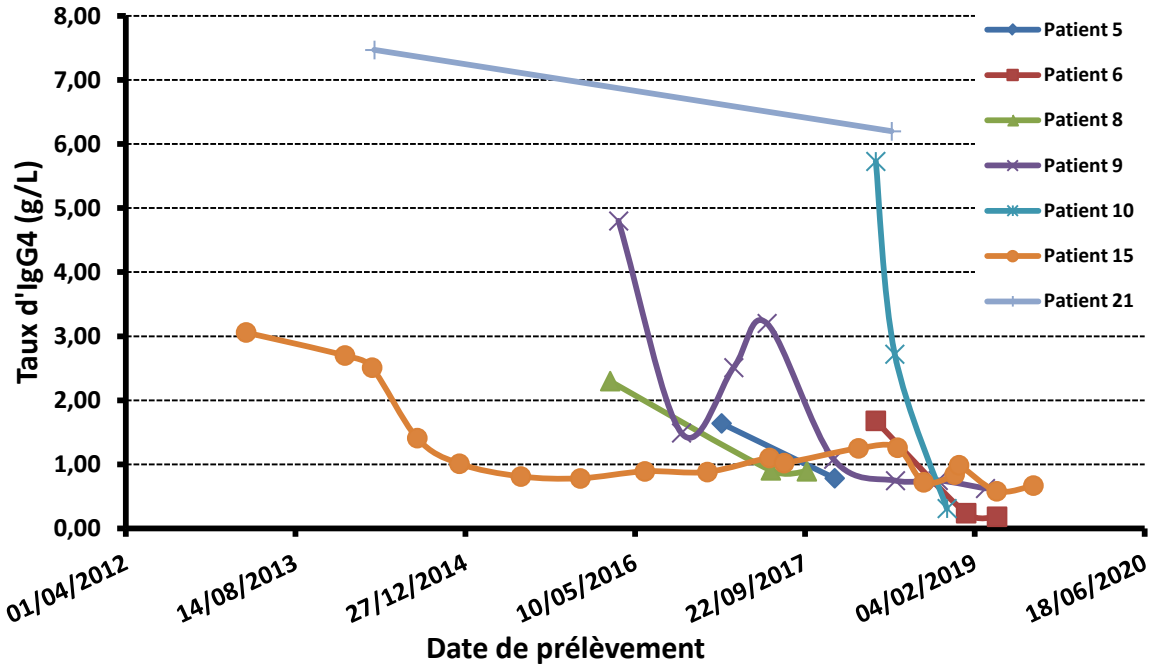


Figure 13. Suivi longitudinal du dosage des IgG4 (g/L) de 7 patients atteints de MAG4.

Tableau XI Traitements initiaux de 7 patients du groupe MAG4 avec la notion de rechute, l'utilisation d'agent d'épargne aux glucocorticoïdes et le traitement actuel.

Patient	Traitement initial	Décroissance corticothérapie	Rechute	Agent d'épargne glucocorticoïdes	Traitement actuel
Patient 5	prednisone 1 mg/kg/j (60 mg/j)	OUI	NON	NON	5 mg/j
Patient 6	prednisone 10 mg/j + rituximab	OUI	NON	OUI (rituximab)	Aucun
Patient 8	méthylprednisolone 500 mg/j 3 jours puis prednisone 1 mg/kg/j (80 mg/j)	OUI	NON	NON	Aucun
Patient 9	prednisone 1 mg/kg/j (80 mg/j)	OUI	OUI (à 20 mg/j prednisone)	OUI (rituximab)	5 mg/j
Patient 10	prednisone 1 mg/kg/j (80 mg/j)	OUI	NON	NON	5 mg/j
Patient 15	prednisone 1 mg/kg/j (80 mg/j)	OUI	OUI (à 5 mg/j prednisone)	OUI (azathioprine)	10 mg/j
Patient 21	prednisone 50 mg/j	OUI	NON	NON	6 mg/j

Pour les patients dont plusieurs dosages ont été effectués dans le cadre du suivi de la maladie, nous avons pris la valeur du taux d'IgG4 à l'initiation du traitement et le dernier dosage effectué, au moins 1 mois après le premier. Les résultats sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII Taux d'IgG4 avant traitement (T0) et après traitement (T1) pour les patients dont le dosage d'IgG4 a été réalisé en suivi

	IgG4 T0 (g/L)	IgG4 T1 (g/L)
Patient 1	1,25	0,77
Patient 2	1,19	0,441
Patient 3	1,08	0,672
Patient 4	6,16	-
Patient 5	1,64	0,783
Patient 6	1,68	0,182
Patient 7	2,86	1,98
Patient 8	2,3	0,892
Patient 9	4,8	0,623
Patient 10	5,73	0,31
Patient 11	37,5	8,83
Patient 12	1,11	0,365
Patient 13	1,35	0,124
Patient 14	1,51	-
Patient 15	3,06	0,669
Patient 16	1,21	-
Patient 17	2,45	0,74
Patient 18	1,64	0,87
Patient 19	0,794	0,348
Patient 20	0,214	0,111
Patient 21	7,47	6,2
Patient 22	4,44	2,17
Patient 23	8,13	-
Patient 24	5,13	-
Patient 25	3,3	1,75
Patient 26	2	-
Patient 27	2,31	0,61
Patient 28	7,83	2,1
Patient 29	1	0,912
Patient 30	0,739	-
Patient 31	2,35	-
Patient 32	2,76	2,38
Patient 33	10,8	-

La décroissance du taux d'IgG4 est significative ($p<0,001$).

Nous avons observé une rechute pour 15 patients (45,5%) alors que le traitement est arrêté ou en phase de décroissance de la corticothérapie. Ces rechutes sont cliniques, objectivées à l'imagerie et les IgG4 sériques augmentent (quand le dosage est réalisé).

Le taux d'IgG4 peut être utile au suivi de la réponse thérapeutique.

4. Discussion

Les données démographiques et épidémiologiques des patients du groupe MAG4 sont comparables aux données de la littérature. L'âge moyen au diagnostic était de 62,0 ans pour 57,2 ans chez les patients non asiatiques (Wallace *et al.* 2019) et l'âge d'apparition des symptômes était de 59,6 ans contre 55,8 ans les patients non asiatiques (Wallace *et al.* 2019). Le sex-ratio de 10,0 était largement représenté par des hommes alors que les cohortes internationales retrouvaient un sex-ratio de 2,0 (Wallace *et al.* 2019). Il faut noter que peu de femmes ont le diagnostic de MAG4 au CHU de Bordeaux comparativement à la littérature, suggérant un sous-diagnostic possiblement lié à une méconnaissance des atteintes plutôt liées à la sphère « tête et cou » (Wallace *et al.* 2019). Le diagnostic de MAG4 mettait environ 1 an à être posé après la première consultation d'après les données du groupe MAG4 (médiane 1 an, moyenne 2,4 ans, 0 – 17 ans). Ceci s'explique essentiellement par le délai entre les consultations et le temps de rassembler tous les résultats paracliniques. Les patients dont le diagnostic de MAG4 a été retenu plus de 5 ans après l'apparition des signes cliniques étaient initialement suivis pour des tumeurs considérées malignes qui se sont révélées être liées aux IgG4. Les services qui suivent les patients (médecine interne, hépato-gastro-entérologie, rhumatologie, néphrologie) sont les plus à même d'être confrontés à ces présentations cliniques particulières. Les atteintes tissulaires correspondent aux formes cliniques prédominantes décrites et retrouvées dans la littérature. Concernant le pronostic, tous les patients étaient suivis depuis plusieurs années et en vie au moment de la rédaction de ce mémoire. Aussi, le pronostic de la maladie en elle-même ne semble pas péjoratif si la maladie est bien contrôlée. Les effets indésirables liés aux traitements (corticothérapie en première ligne avec notamment un diabète cortico-induit chez 14 patients soit 42,4%) et la localisation de l'atteinte sont responsables de la morbi-mortalité. Le taux de rechute est élevé (autour de 45,5% au CHU de Bordeaux), ce qui concorde avec le taux de 30 à 50% retrouvé dans la littérature (Kamisawa *et al.* 2009; Shirakashi *et al.* 2018; Yamamoto *et al.* 2015).

Un total de 33 patients atteints de MAG4 suivis au CHU de Bordeaux ont été identifiés et constituent ainsi une cohorte française. La confrontation à des données d'autres CHU permettrait d'affiner les résultats obtenus. Il existe par ailleurs une cohorte nationale supervisée par les internistes de l'hôpital de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille (AP-HM) et dont le recrutement est toujours en cours. Une étude espagnole de 2019 a évalué ces critères CCAE (Fernandez-Codina *et al.* 2019). Les patients atteints de MAG4 étaient au nombre de 100, originaires de 9 centres hospitaliers, étaient suivis entre octobre 2013 et décembre 2018. Pour être inclus, ils devaient avoir au moins 1 des critères CDC au diagnostic. Leur cohorte retrouvait 34% de femmes contre 10% dans la nôtre. Les atteintes étaient concordantes avec ce que nous avions retrouvé et ceux décrits par la

littérature. Le taux d'IgG4 était supérieur à 1,35 g/L pour 42 patients (42%), *contra* 75,8% au CHU de Bordeaux. Concernant les critères CCAE, 71 patients (71%) avaient plus de 19 points contre 67% au CHU de Bordeaux, ce qui est comparable. Les auteurs insistaient sur la nécessité de considérer le critère histopathologique. En effet, si les investigateurs considéraient les résultats des critères CDC, un diagnostic possible (regroupant donc une atteinte d'organe et un dosage d'IgG4 en faveur de MAG4) était retrouvé pour 8 patients pour lesquels il manquait donc le critère histopathologique.

La **comparaison des critères diagnostiques** a permis de mettre en lumière les points faibles des critères CDC : la biopsie dont la réalisation est cruciale, avec le marquage IgG4+ (exception faite des cas francs d'atteinte pancréatique comme semble le montrer notre cohorte) Si nous considérons les critères CCAE, nous avons observé 7 patients de plus avec un diagnostic certain (ayant donc eu plus de 19 points). Deux de ces patients avaient un diagnostic possible mais l'atteinte clinique pancréatique rapporte beaucoup de points. Nous pouvons remarquer qu'un autre patient (Patient 7) présentait un diagnostic possible selon les critères CDC et obtient 18,6 points selon les critères CCAE, donc quasiment certain en l'absence de biopsie. Donc même sans biopsie, une atteinte pancréatique (+/- voies biliaires) objectivée à l'imagerie et associée à une augmentation des IgG4 pourrait permettre de poser le diagnostic en suivant les critères CCAE. Ceci consiste un point fort des critères CCAE.

La deuxième limite des critères CDC est le taux d'IgG4 avec un seuil de 1,35 g/L. Les résultats des critères CDC montraient un diagnostic probable (regroupant donc une atteinte d'organe et des critères histopathologiques en faveur de MAG4) pour 6 patients pour lesquels l'augmentation des IgG4 n'était pas présente. Cinq valeurs étaient augmentées au regard des bornes de notre laboratoire de 0,737 g/L. Le seuil déterminé en 2001 et repris par les critères CDC de 2011 se confirme être inadapté. Le **seuil de 1,35 g/L du taux d'IgG4 dans le diagnostic de la MAG4** avait été déterminé par l'équipe japonaise d'Hamano *et al.* par immunodiffusion radiale en 2001 (Hamano *et al.* 2001). L'évaluation de ce seuil avait montré une sensibilité de 95% et une spécificité de 97%.Dans une cohorte japonaise (Masaki *et al.* 2012), le seuil de 1,35 g/L avait montré une sensibilité de 97,0% et une spécificité de 79,6% pour le diagnostic de MAG4. Leur technique de dosage n'est pas précisée. Une équipe américaine a également évalué ce seuil (Carruthers *et al.* 2015). Les dosages ont été effectués par néphélémétrie sur BNII Siemens à partir de réactifs Siemens ou The Binding Site, technique que nous utilisons au CHU de Bordeaux avec les réactifs The Binding Site. La sensibilité était de 90% et la spécificité de 60%. La VPP était de 34% et la VPN de 96%. D'après notre étude, la sensibilité observée est de 75,6% et la spécificité de 97,3%. La VPP est de 22,7% et la VPN de 99,7%. Nous obtenons donc une sensibilité moins bonne et une spécificité plus élevée possiblement liées à notre groupe témoin. La VPN reste très élevée, quelles que soient les études. Toutefois, cette dernière est dépendante de la prévalence de la MAG4 qui est très rare, il est donc normal que la VPN soit très élevée. De plus, de

nombreux contextes (parasitoses à Helminthes, vascularites…) sont associés à une augmentation des IgG4, conférant une faible spécificité et une VPP basse pour ce seuil d'1,35 g/L d'IgG4. Un nombre non négligeable de patients ont une MAG4 prouvée par biopsie sans avoir d'IgG4 sériques augmentées.

Une méta-analyse de tous les articles ayant étudié ce seuil entre 2000 et 2015 a permis de montrer sur 23 études et 6048 patients associés que le dosage des IgG4 sériques est un paramètre avec une acuité diagnostique élevée (sensibilité et spécificité globales de 85% et 93%, respectivement) (Xu *et al.* 2016). Une seconde méta-analyse parue la même année aboutit aux mêmes conclusions (Hao *et al.* 2016). Ces méta-analyses rassemblaient plusieurs méthodes d'analyses (néphélémétrie, immunodiffusion radiale et ELISA) et les cut-offs utilisés par les laboratoires étaient de 1,30 à 2,00 g/L d'IgG4. Sur une cohorte asiatique de 2901 patients dont 161 patients MAG4, le seuil optimal a été montré de 2,48 g/L (Yu *et al.* 2015). Selon les données observées au CHU de Bordeaux, la construction de courbes ROC nous a permis de définir un autre seuil pour le taux d'IgG4 circulant qui est d'1 g/L (Se = 91%, Sp = 95%). L'aire sous la courbe étant de 0,963 (IC 95% = 0,9227 - 0,9999), suggérant que le dosage d'IgG4 est un paramètre plutôt discriminant pour la MAG4.

L'utilisation du ratio IgG4/IgG totales n'améliore pas les performances globales du paramètre pour le diagnostic de MAG4. Dans l'une des méta-analyses, les investigateurs avaient regardé les résultats si le seuil initial du laboratoire pour la MAG4 était doublé. Cela n'améliorait pas les caractéristiques globales, la spécificité augmentant, au détriment logique de la sensibilité. Concernant le **suivi du taux d'IgG4 chez les patients atteints de MAG4**, celui-ci diminue significativement après l'initiation du traitement, parallèlement à la fibrose. Du plus une ré-ascension est souvent observée lors des rechutes. Ces phénomènes sont décrits dans la littérature (Kamisawa *et al.* 2009; Shirakashi *et al.* 2018; Yamamoto *et al.* 2012, 2015:20) mais il n'y a pas de recommandation concernant le suivi du taux d'IgG4 après diagnostic. Le taux de plasmablastes circulants, qui a montré des sensibilités et spécificités prometteuses dans la littérature, n'a jamais été évalué chez les patients du CHU de Bordeaux lors du diagnostic. La réalisation de l'examen dans les suspicions de MAG4 devrait se généraliser.

5. Conclusion

Nous avons évalué les performances des critères ACR au sein d'une cohorte française de 33 patients diagnostiqués ou suivis pour une MAG4 au CHU de Bordeaux. Nous avons montré que les critères CDC présentaient deux limites que sont la nécessité d'une biopsie et un seuil de 1,35 g/L pour les IgG4. L'application des critères prévisionnels CCAE permet de mieux caractériser avec certitude les patients atteints de MAG4 : 22/33 soit 66,7% des patients au lieu de 15/33 soit 45% ($p<0,05$). Nous avons noté que les scores obtenus soient plus faibles avec moins de points dans les domaines significatifs (taux d'IgG4 et atteinte pancréatique). Les biopsies restent primordiales Nous proposons une nouvelle valeur seuil de seuil d'1 g/L pour définir la MAG4 avec une sensibilité, spécificité, VPN et VPP de 90,9% , 95,0%, 16,3% et 99,9%, respectivement. Le suivi du taux après initiation du traitement pourrait être recommandé à tous les patients de manière formelle et consensuelle. Les critères CCAE ne sont toutefois pas encore publiés lors de la rédaction de ce mémoire. Cette classification a pour le moment un but d'inclusion dans les essais cliniques et se focalise donc sur les manifestations cliniques les plus courantes. *De facto*, les critères de classification initiaux restent importants pour établir le diagnostic clinique. La maladie reste par ailleurs possiblement largement sous-diagnostiquée.

6. Références bibliographiques

Carruthers, Mollie N., Arezou Khosroshahi, Tamara Augustin, Vikram Deshpande, et John H. Stone. 2015. « The Diagnostic Utility of Serum IgG4 Concentrations in IgG4-Related Disease ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 74(1):14 -18.

Deshpande, Vikram, Yoh Zen, John KC Chan, Eunhee E. Yi, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino, Günter Klöppel, J. Godfrey Heathcote, Arezou Khosroshahi, Judith A. Ferry, Rob C. Aalberse, Donald B. Bloch, William R. Brugge, Adrian C. Bateman, Mollie N. Carruthers, Suresh T. Chari, Wah Cheuk, Lynn D. Cornell, Carlos Fernandez-Del Castillo, David G. Forcione, Daniel L. Hamilos, Terumi Kamisawa, Satomi Kasashima, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano, Gregory Y. Lauwers, Yasufumi Masaki, Yasuni Nakanuma, Kenji. Stone, Masayuki Takahira, George J. Webster, Motohisa Yamamoto, Giuseppe Zamboni, Hisanori Umehara, et John H. Stone. 2012. « Consensus Statement on the Pathology of IgG4-Related Disease ». *Modern Pathology* 25(9):1181 -92.

Fernandez-Codina, Andreu, Blanca Pinilla, Iago Pinal-Fernandez, Carlos Feijoo-Masso, Miguel Lopez-Dupla, Eva Fonseca, Olimpia Orozco-Galvez, Fernando Martínez-Valle, et Registro Español de Enfermedad Relacionada con la IgG4 (REERIGG4) Geas/Semi. 2019. « Op0170 Use of the Provisional Eular/Acr Igg4-Rd Classification Criteria in a Cohort of Spanish Patients ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 78(Suppl 2):161 -161.

Hamano, Hideaki, Kawa Shigeyuki, Horiuchi Akira, Unno Hiroshi, Furuya Naoyuki, Akamatsu Taiji, Fukushima Mana, Nikaido Toshio, Nakayama Kohzo, Usuda Nobuteru, et Kiyosawa Kendo. 2001. « High Serum IgG4 Concentrations in Patients with Sclerosing Pancreatitis ». *The New England Journal of Medicine* 7.

Hao, Mingju, Min Liu, Gaowei Fan, Xin Yang, et Jinming Li. 2016. « Diagnostic Value of Serum IgG4 for IgG4-Related Disease: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis ». *Medicine* 95(21):e3785.

Kamisawa, T., T. Shimosegawa, K. Okazaki, T. Nishino, H. Watanabe, A. Kanno, F. Okumura, T. Nishikawa, K. Kobayashi, T. Ichiya, H. Takatori, K. Yamakita, K. Kubota, H. Hamano, K. Okamura, K. Hirano, T. Ito, S. B. H. Ko, et M. Omata. 2009. « Standard Steroid Treatment for Autoimmune Pancreatitis ». *Gut* 58(11):1504 -7.

Masaki, Yasufumi, Nozomu Kurose, Motohisa Yamamoto, Hiroki Takahashi, Takako Saeki, Atsushi Azumi, Shinji Nakada, Shoko Matsui, Tomoki Origuchi, Susumu Nishiyama, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano, Akira Hirabayashi, Keita Fujikawa, Tomoko Sugiura, Masanobu Horikoshi, Naoto Umeda, Hiroshi Minato, Takuji Nakamura, Haruka Iwao, Akio Nakajima, Miyuki Miki, Tomoyuki Sakai, Toshioki Sawaki, Takafumi Kawanami, Yoshimasa Fujita, Masao Tanaka, Toshihiro Fukushima, Katumi Eguchi, Susumu Sugai, et Hisanori Umehara. 2012. « Cutoff Values of Serum IgG4 and Histopathological IgG4+ Plasma Cells for Diagnosis of Patients with IgG4-Related Disease ». *International Journal of Rheumatology* 2012:1 -5.

Shirakashi, Mirei, Hajime Yoshifuji, Yuzo Kodama, Tsutomu Chiba, Motohisa Yamamoto, Hiroki Takahashi, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki, Tetsuya Ito, Shigeyuki Kawa, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano, Shintaro Hirata, Yoshiya Tanaka, Masafumi Moriyama, Seiji Nakamura, Terumi Kamisawa, Shoko Matsui, Hiroto Tsuboi, Takayuki Sumida, Motoko Shibata, Hiroshi Goto, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino, et Tsuneyo Mimori. 2018. « Factors in Glucocorticoid Regimens Associated with Treatment Response and Relapses of IgG4-Related Disease: A Multicentre Study ». *Scientific Reports* 8(1):10262.

Umehara, Hisanori et Kazuichi Okazaki. 2012. « Comprehensive Diagnostic Criteria for IgG4-Related Disease ». P. 35 -39. In *IgG4-Related Disease*, édité par H. Umehara, K. Okazaki, J. H. Stone, S. Kawa, et M. Kawano. Tokyo: Springer Japan.

Umehara, Hisanori, Kazuichi Okazaki, Yasufumi Masaki, Mitsuhiro Kawano, Motohisa Yamamoto, Takako Saeki, Shoko Matsui, Tadashi Yoshino, Shigeo Nakamura, Shigeyuki Kawa, Hideaki Hamano, Terumi Kamisawa, Toru Shimosegawa, Akira Shimatsu, Seiji Nakamura, Tetsuhide Ito, Kenji Notohara, Takayuki Sumida, Yoshiya Tanaka, Tsuneyo Mimori, Tsutomu Chiba, Michiaki Mishima, Toshifumi Hibi, Hirohito Tsubouchi, Kazuo Inui, et Hirotaka Ohara. 2012. « Comprehensive Diagnostic Criteria for IgG4-Related Disease (IgG4-RD), 2011 ». *Modern Rheumatology* 22(1):21 -30.

Wallace, Zachary S., Yuqing Zhang, Cory A. Perugino, Ray Naden, Hyon K. Choi, et John H. Stone. 2019. « Clinical Phenotypes of IgG4-Related Disease: An Analysis of Two International Cross-Sectional Cohorts ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 78(3):406 -12.

Xu, Wen-long, Ying-chun Ling, Zhi-kai Wang, et Fang Deng. 2016. « Diagnostic Performance of Serum IgG4 Level for IgG4-Related Disease: A Meta-Analysis ». *Scientific Reports* 6(1).

Yamamoto, M., M. Nojima, H. Takahashi, Y. Yokoyama, K. Ishigami, H. Yajima, Y. Shimizu, T. Tabeya, M. Matsui, C. Suzuki, Y. Naishiro, K. -i. Takano, T. Himi, K. Imai, et Y. Shinomura. 2015. « Identification of Relapse Predictors in IgG4-Related Disease Using Multivariate Analysis of Clinical Data at the First Visit and Initial Treatment ». *Rheumatology* 54(1):45 -49.

Yamamoto, Motohisa, Hiroki Takahashi, Keisuke Ishigami, Hidetaka Yajima, Yui Shimizu, Tetsuya Tabeya, Mikiko Matsui, Chisako Suzuki, Yasuyoshi Naishiro, Kohzoh Imai, et Yasuhisa Shinomura. 2012. « Relapse Patterns in IgG4-Related Disease: Table 1 ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 71(10):1755 -1755.

Yu, Kuang-Hui, Tien-Ming Chan, Ping-Han Tsai, Ching-Hui Chen, et Pi-Yueh Chang. 2015. « Diagnostic Performance of Serum IgG4 Levels in Patients With IgG4-Related Disease »: *Medicine* 94(41):e1707.

7. Annexes et données complémentaires

Tableau SXIII Domaines et critères d'inclusion selon la classification ACR/EULAR 2018 de la MAG4

Domaine	Critères	Points
Taux d'IgG4 sériques	Dans les limites des valeurs normales (N)	0
	N – 2N	3,7
	2N – 5N	6,1
	> 5N	10,8
Histopathologie et Immunomarquage	Biopsie non contributive	0
	Infiltrat lymphoplasmocytaire dense (ILD)	3,7
	ILD avec phlébite oblitérante	6,1
	ILD avec fibrose « storiforme »	13,3
Elargissement des glandes lacrymales et/ou salivaires	Une glande ou paire de glandes	5,9
	A partir de deux paires de glandes	13,8
Aorte thoracique et tronc	Epaississement péri-broncho-vasculaire et septal	3,8
	Aspect de bande de tissu mou paravertébral au niveau de la cage thoracique	9,8
Pancréas et voies biliaires	Elargissement pancréatique diffus (perte des lobulations)	8
	Précédent associé à l'aspect « *capsule-like rim* » anneau hypodense et/ou hypointense T2	10,5
	Atteinte du pancréas et de l'arbre biliaire	18,7
Rein	Hypocomplémentémie	5,8
	Epaississement du pelvis rénal, présence d'un tissu mou ou les deux	8,1
Rétropéritoine	Epaississement diffus de la paroi aortique abdominale	4,1
	Tissu mou circonférentiel ou antérolatéral autour de l'aorte infrarénale ou des artères iliaques	7,8

Tableau SXIV Critères d'exclusion selon la classification ACR/EULAR 2018 de la MAG4

Critères d'exclusion de MAG4	
Exclusions cliniques	- Fièvre - Absence de réponse au traitement par corticoïdes
Exclusions biologiques	- Leucopénie et Thrombopénie - Hyperéosinophilie périphérique (> 3 G/L) - ANCA positifs (MPO ou PR3) - Anticorps anti-SSA/Ro ou Anticorps anti-SSB/La positifs - Positivité des autres anti-ENA (*Extractable Nuclear Antibody*) - Positivité des anticorps anti-ADN double brin - Présence de cryoglobulines - Autres anticorps spécifiques de maladies auto-immunes
Exclusions radiologiques	- Progression rapide à l'imagerie - Ostéosclérose (telle que dans la maladie d'Erdheim Chester) - Splénomégalie - Atteintes infectieuses et malignes, associées ou non
Exclusions histologiques	- Inflammation granulomateuse primaire - Vascularite nécrosante - Infiltrat malin - Infiltrat macrophagique/histiocytaire prédominant - Infiltrat neutrophile prédominant - Maladie de Castleman multicentrique - Nécrose importante - Pseudotumeurs inflammatoires

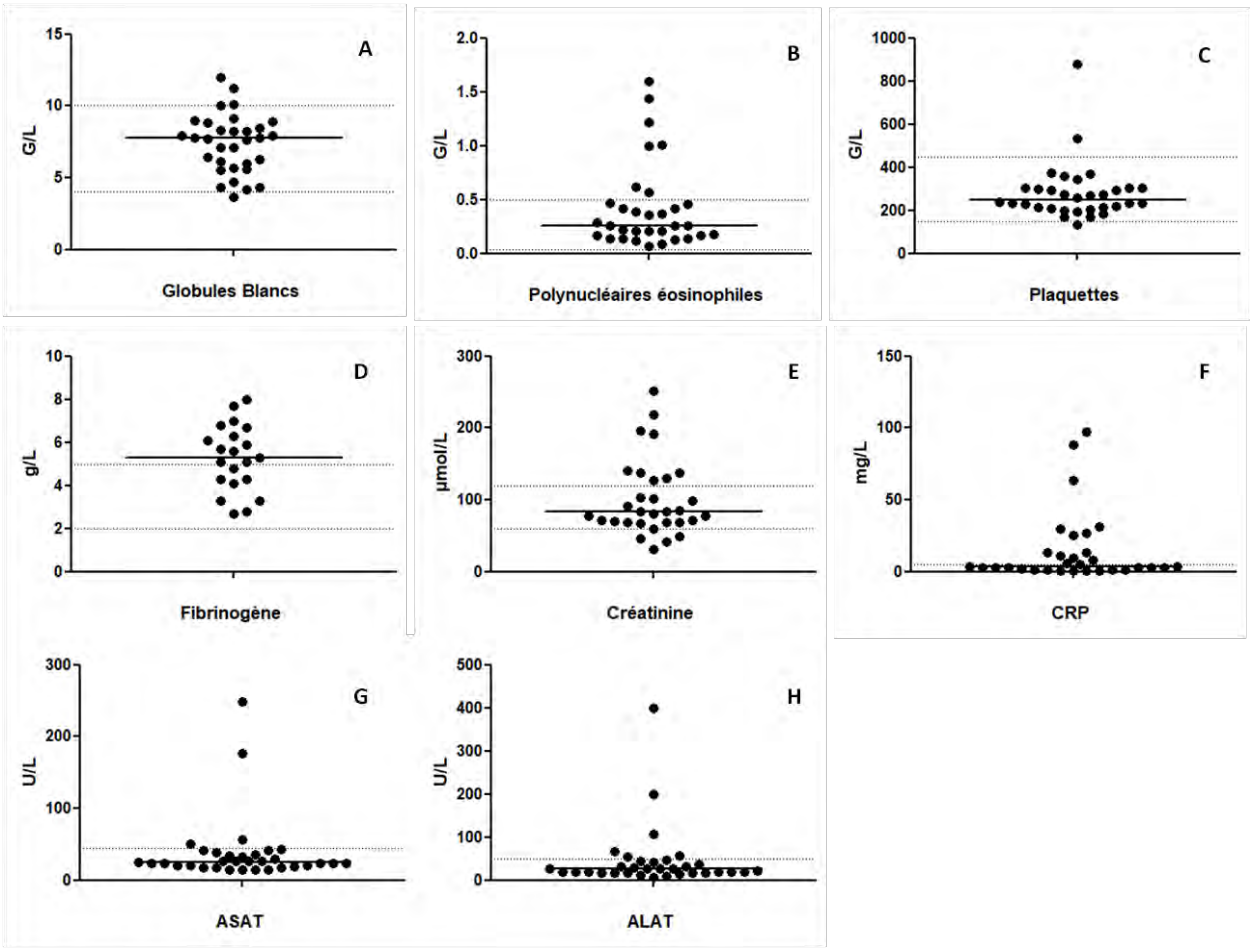


Figure S14 Résultats des paramètres d'hématologie et de biochimie du groupe MAG4, avec médiane (barres horizontales). Lignes pointillées = normes laboratoire. A – Globules blancs médiane : 7,75 G/L (4,2 – 12 G/L, n = 32) B – Polynucléaires éosinophiles médiane 0,26 G/L (0,09 – 1,60 G/L, n = 32) C – Plaquettes médiane 248 G/L (132 – 531 G/L, n = 32) D – Fibrinogène 5,3 g/L (2,7 – 8 g/L, n = 21) E – Créatinine médiane 83 µmol/L (31 – 196 µmol/L, n = 31) F – CRP médiane 3,2 mg/L (0,2 – 88,5 mg/L, n = 31) G – ASAT médiane 25 U/L (14 – 248 U/L, n = 33) H – ALAT médiane 27 U/L (<6 – 398 U/L, n = 33)

Tableau SXV Données biologiques relatives au groupe MAG4. GB = globules blancs (G/L), Plaquettes (G/L), PNE = polynucléaires éosinophiles (G/L), Fg = fibrinogène (g/L), Créat = créatinine (µmol/L), CRP = protéine C réactive (mg/L), ASAT = aspartate aminotransférases (U/L), ALAT = alanine aminotransférases (U/L), Lipase (U/L), IgE (kUI/L), ANCA et Type, Cryo = cryoglobuline, ANA = anticorps anti-noyau (titre), Aspect (FM = finement moucheté, M = moucheté, NAP = non applicable), ENA = anti-antigène soluble du noyau (NEG = négatif, NF = non fait), CH50 = activité fonctionnelle de la voie classique du complément (%), protéines C3 et C4 du complément (g/L), LyB CD19+ = lymphocytes B (G/L). Cases avec le caractère « - » = analyse non prescrite

Patient	GB	Plaquettes	PNE	Fg	Créat	CRP	ASAT	ALAT	Lipase	IgE	ANCA	Type ANCA	Cryo	ANA	Aspect	ENA	CH50	C3	C4	LyB CD19+
Patient 1	6	291	1,6	5,6	60	2,9	42	19	22	303	NEG	NAP	-	1/100	FM	NEG	74	1,23	0,51	0,228
Patient 2	5,6	234	0,09	4,1	78	2,7	27	19	-	-	NEG	NAP	NEG	1/160	M	NEG	95	1,08	0,27	-
Patient 3	11,97	531	0,47	7,7	81	88,5	14	16	-	-	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NF	73	1,37	0,32	0,129
Patient 4	5,7	170	0,14	6,7	219	5,8	38	27	-	-	NEG	NAP	NEG	1/80	M	NEG	66	0,61	0,13	-
Patient 5	4,2	305	0,13	8	49	97,2	18	8	-	-	NEG	NAP	-	1/80	M	NF	89	1,6	0,26	-
Patient 6	6,4	213	0,29	-	69	2,6	23	18	-	-	NEG	NAP	-	NEG	NAP	NF	74	1,09	0,25	-
Patient 7	-	-	-	-	-	-	176	199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 8	7,9	302	0,17	-	69	7,8	21	15	16	-	1/320 c-ANCA	0	-	1/80	M	NF	84	1,32	0,3	-
Patient 9	6,3	202	0,21	4,3	91	11,3	25	17	-	-	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NF	95	1,13	0,22	-
Patient 10	6,1	212	1,22	5,1	98	0,2	23	31	-	-	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NF	76	1,03	0,19	0,118
Patient 11	9,1	195	1	3,3	140	5,3	57	46	-	-	NEG	NAP	-	NEG	NAP	NF		-	-	-
Patient 12	7,65	293	0,39	5,7	70	25,6	33	41	-	-	NEG	NAP	NEG	1/160	M	NEG	80	1,48	0,26	-
Patient 13	11,2	876	0,37	6,1	46	63,5	14	12	10	-	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NEG	68	1,24	0,21	-
Patient 14	7,7	300	0,42	-	196	26,4	15	<6	-	-	NEG	NAP	-	1/80	M	NF	-	-	-	-
Patient 15	7,8	360	0,07	-	103	-	17	16	-	-	-	-	-	1/160	M	NEG	66	1,17	0,23	0,145
Patient 16	4,3	132	0,17	4,8	138	0,9	24	16	-	-	-	-	-	1/80	M	NF	-	-	-	-
Patient 17	8,23	268	0,26	7	85	13	248	398	-	-	-	-	-	1/100	M	NEG	-	-	-	-
Patient 18	3,64	184	0,18	-	42	0,6	34	107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 19	8,3	275	1,44	2,7	101	2,8	30	22	-	491	NEG	NAP	-	NEG	NAP	NF	96	1,23	0,44	-
Patient 20	8,79	258	0,62	5,3	252	3,2	20	30	-	6	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NF	94	1,23	0,28	-
Patient 21	4,3	210	0,46	-	83	2,2	20	17	<3	-	NEG	NAP	NEG	NEG	NAP	NEG	36	0,54	0,08	-
Patient 22	10	235	0,14	3,3	192	0,4	23	19	-	-	NEG	NAP		1/80	M	NF	54	0,96	0,17	-
Patient 23	4,7	235	0,21	-	83	2,5	24	31	-	-	NEG	NAP		1/50	M	NEG	-	-	-	-
Patient 24	7,1	301	0,21	-	69	1,3	43	53	-	645	-	-	NEG	1/320	M	NEG	-	-	-	-
Patient 25	7,8	237	1,01	2,8	137	3,1	19	27	-	858	-	-	-	NEG	NAP	NF	-	-	-	0,165
Patient 26	9	371	0,26	-	67	13	17	20	-	-	NEG	NAP	-	NEG	NAP	NF	-	-	-	-
Patient 27	8,2	345	0,12	-	127	30,9	15	20	-	-	NEG	NAP	-	1/50	M	NEG	-	-	-	-
Patient 28	8,45	167	0,42	5,1	130	29,9	51	66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 29	7,9	271	0,36	6,8	72	9,4	27	57	-	-	NEG	NAP	NEG	1/160	M	NEG	99	1,6	0,39	-
Patient 30	8,9	368	0,57	6,3	31	1,3	36	36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 31	5,5	198	0,26	5,9	72	0,5	41	43	-	-	NEG	NAP	-	NEG	NAP	NF	99	1,98	0,33	-
Patient 32	10,1	226	0,22	4,3	78	3,6	26	27	-	-	-	-	-	1/160	FM	NEG	-	-	-	-
Patient 33	7,1	220	0,14	-	-	1,1	26	27	-	-	NEG	NAP	-	1/640	FM	NEG	-	-	-	-

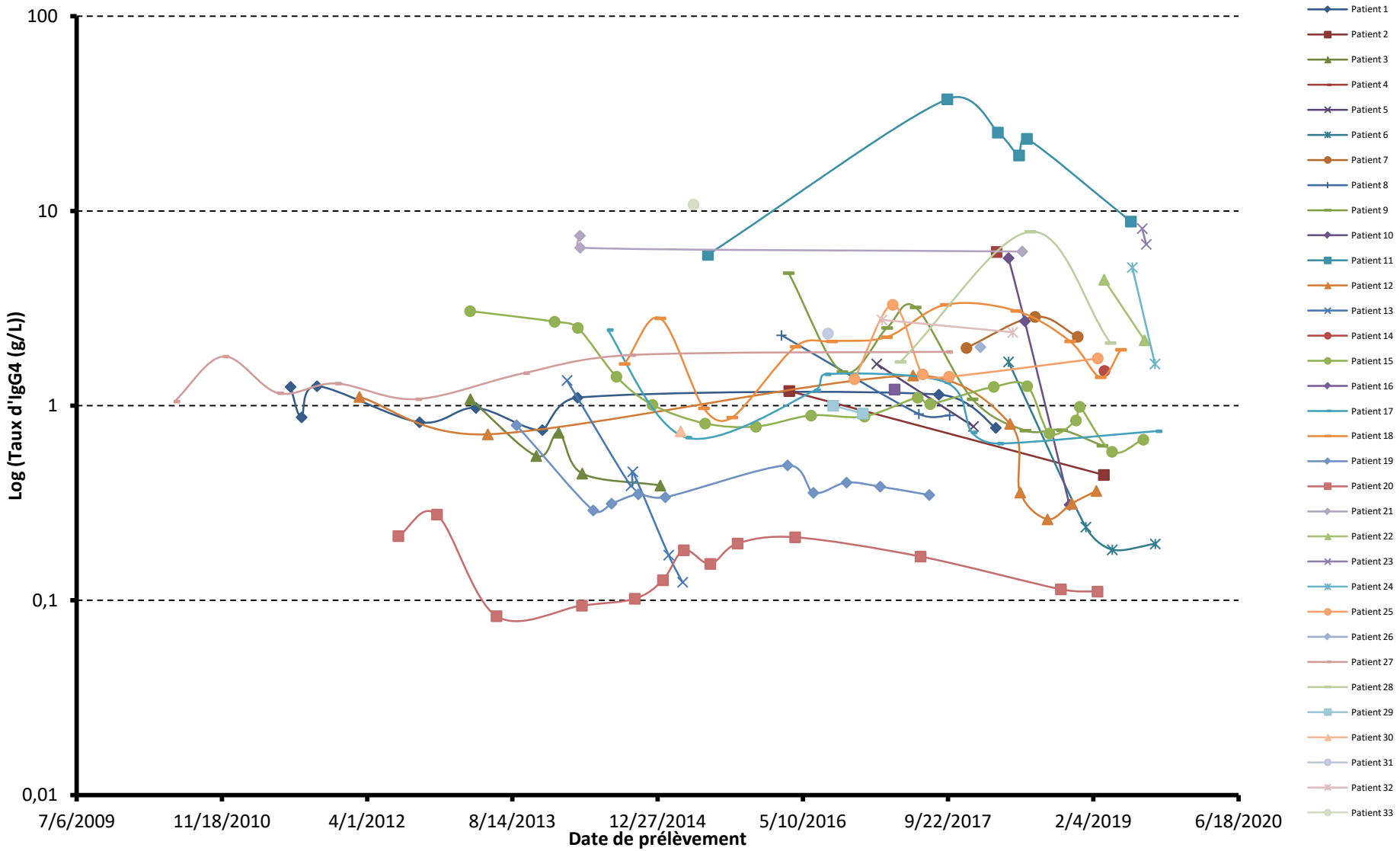


Figure S15 Représentation semi-logarithmique du suivi longitudinal du dosage des IgG4 sériques pour les patients du groupe MAG4. *(Version actualisée le 15 septembre 2019)*

Chapitre 2

Caractérisation des IgG4 monoclonales et polyclonales par migrations électrophorétiques et dosage néphélémétrique

Contexte :

L'IgG4 est impliquée dans de nombreuses analyses de biologie médicale. Les méthodes quantitatives (dosage turbidimétrique ou néphélémétrique) et qualitatives (électrophorèse des protéines sériques et immunofixation) peuvent être perturbées par les IgG4 et les anticorps monoclonaux thérapeutiques dérivés des IgG4. Ces interférences ne sont pas décrites dans la littérature et doivent être maitrisées au laboratoire. Nous avons ainsi étudié le profil de migration électrophorétique et en immunofixation sérique des IgG4 et des anticorps monoclonaux thérapeutiques dérivés des IgG4. Nous avons cherché à expliquer le rôle des IgG4 dans une interférence observée sur les méthodes de dosage utilisées au laboratoire : la somme des taux des sous-classes d'IgG réalisés séparément n'est pas égale à celui des IgG totales. Enfin, dans un contexte actuel de rationalisation des prescriptions d'analyses de biologie médicale, nous avons souhaité évaluer la prescription des sous-classes d'IgG au CHU de Bordeaux. Cette analyse a pour but de proposer une aide à la prescription pour les services cliniques et un algorithme pratique de revue des prescriptions pour les biologistes.

1. Introduction

Les immunoglobulines d'isotype G sont représentées dans tous les domaines en lien avec la médecine : elles ont une place forte dans l'arsenal du système immunitaire de chaque individu, elles peuvent constituer un traitement en elles-mêmes : sous-forme polyclonales (polyvalentes substitutives ou immunomodulatrices) ou monoclonales (anticorps thérapeutiques), et elles sont utilisées dans les dosages des examens de routine en biologie médicale. Toutefois, lorsqu'il s'agit d'estimer la part de la sous-classe IgG4 dans chacun de ces domaines, la question est plus difficile.

Bien que les IgG4 représentent 5% des Ig totales en situation physiologique (Aalberse *et al.* 2009), leur augmentation polyclonale est possible, notamment dans la maladie associée aux IgG4 (MAG4) où leur concentration peut atteindre plusieurs dizaines de grammes par litre. Leur évaluation en routine au laboratoire est basée sur un dosage quantitatif. Leur comportement dans les analyses qualitatives pour caractériser les immunoglobulines totales n'est pas bien appréhendé. Deux publications ont constaté un profil atypique (Finn *et al.* 2016; Jacobs, van der Molen, et Keren 2014) mais l'augmentation des IgG4 n'est pas reconnue dans l'interprétation de ces profils particuliers d'électrophorèse. Par ailleurs, alors que des interférences sur les profils électrophorétiques ont été démontrées avec des IgG1 kappa telles que le daratumumab (van de Donk *et al.* 2016) ou plus récemment l'elotuzumab (Tang *et al.* 2018), il n'y a pas d'interférence décrite avec des IgG4 monoclonales thérapeutiques. D'un point de vue quantitatif, la sommation des taux des quatre sous-classes d'IgG (IgGs) ne permet pas de toujours retrouver la valeur obtenue avec le dosage des IgG totales (IgGt). Par ailleurs, la spécialisation accrue des professionnels médicaux et l'avancée des connaissances scientifiques font que les sous-classes d'IgG présentent un intérêt croissant et les prescriptions de leur dosage représentent un pourcentage significatif de l'activité du laboratoire d'Immunologie.

Ces points nous ont conduit à regarder les profils de migration électrophorétique de patients avec une augmentation monoclonale ou polyclonale (dont la MAG4) des IgG4, ou ayant un traitement au long cours par un anticorps monoclonal thérapeutique de type IgG4. Cette démarche avait notamment pour but de reconnaître les profils atypiques liés à ces IgG4 dans la pratique quotidienne du laboratoire. Nous avons ensuite investigué les raisons potentielles expliquant la discordance observée entre IgGs et IgGt et savoir quelle est la part d'implication des IgG4. Enfin, notre réflexion s'est portée sur la mise en place d'une fiche de renseignements cliniques obligatoires pour la réalisation du dosage des sous-classes d'IgG au laboratoire d'Immunologie et d'immunogénétique du CHU de Bordeaux et sur l'élaboration d'un algorithme de revue de prescription. Ces outils auront pour but d'améliorer les pratiques cliniques et biologiques.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Extraction de données

Les résultats de dosage des sous-classes d'IgG et des IgG totales ont été obtenus à partir du système informatique du laboratoire (Synergy, TechniData, Montbonnot-Saint-Martin, France) entre le 1er janvier 2015 et le 31 juillet 2019. Les taux des sous-classes d'IgG et d'IgG totales ont été mesurés au laboratoire d'Immunologie par immunonéphélémétrie (Nephelometer BN™ II, Siemens, Munich, Allemagne) avec les réactifs BS IgG Subclass (The Binding Site, Birmingham, Royaume-Uni) et N antisérums anti-immunoglobulines humaines IgG (Siemens), respectivement. Les contrôles de qualité internes et externes, les analyses annulées par la revue de prescription, les analyses non rendues pour cause de quantité insuffisante et les demandes non conformes ont été exclues. Les dosages des sous-classes d'IgG et celui des IgG totales considérés avaient été réalisés sur un même échantillon. La somme des sous-classes d'IgG a été calculée pour chacun d'entre eux. Quand la valeur d'une sous-classe était inférieure à la limite basse de quantification (IgG1<0,120, IgG2<0,140, IgG3<0,003, IgG4<0,002 g/L), une valeur égale à la moitié de cette limite de quantification a été attribuée pour pouvoir effectuer le calcul. La différence entre la somme des sous-classes d'IgG et le dosage des IgG totales (%Diff(IgGs-IgGt)) est calculée selon la formule suivante :

$$\%\mathrm{Diff}(\mathrm{IgGs} - \mathrm{IgGt}) = \left(\frac{\mathrm{IgGs} - \mathrm{IgGt}}{\mathrm{IgGt}}\right) \times 100$$

2.2. Sélection des sérums

Les sérums étaient conservés en sérothèque, à -20°C dans le respect des bonnes pratiques en vigueur au laboratoire.

Pour montrer le profil de migration des IgG4, deux sérums provenant de patients atteints de gammapathie monoclonale de type IgG4 et onze sérums provenant de patients ayant des augmentations polyclonales des IgG4 avec d'autres étiologies ont été sélectionnés.

L'analyse de l'interférence de l'eculizumab SOLIRIS a été réalisée sur la fraction aliquotée et conservée au laboratoire pour les patients suivis par dosage de la molécule libre. Ce dosage est sous-traité au laboratoire d'Immunologie de l'Hôpital Européen Georges-Pompidou. La technique correspond à un ELISA développé par leur laboratoire. Un total de 30 dosages d'eculizumab avait été réalisé pour neuf patients. Les patients n'étaient pas atteints de gammapathie monoclonale. Nous avons choisi 6 prélèvements provenant d'un même patient et dont les concentrations d'eculizumab allaient de 315 à 1151 mg/L.

2.3. Immuno-analyses

Les techniques de routine en vigueur au CHU de Bordeaux ont été employées.

L'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée par le laboratoire de Biochimie sur automate Capillarys 2, Sebia (*Montagu Private Equity*, Londres, Royaume-Uni) avec les réactifs Capillarys Protéine 6. L'immunofixation sérique a été réalisée au laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique sur automates Assist et Hydrasys 2 Scan, Sebia avec les réactifs Hydragel 9 IF ou 4 IF.

Les taux des sous-classes d'IgG ont été mesurés comme décrit *supra* (2.2). Les différences observées dans l'étude des discordances entre IgGt et IgGs persistaient malgré redosage, dilutions et vérifications préalables préconisées par le fournisseur (pré-réaction…).

2.4. Statistiques

L'analyse de la corrélation a été réalisée avec un test de corrélation de Pearson. La comparaison du dosage des IgG et de la somme des sous-classes d'IgG a été faite avec un test apparié de Wilcoxon. Les figures et les statistiques ont été obtenues par utilisation des logiciels Excel 2010 ou GraphPad Prism v.5.0.

3. Résultats

3.1. Profils de migration des IgG4

3.1.1. Dans les gammapathies monoclonales IgG4

Deux patients présentant une gammapathie monoclonale de type IgG4 ont été sélectionnés, les conclusions de l'ELP et de l'IF sont présentées dans le Tableau I, ainsi que les taux des sous-classes d'IgG et d'IgG totales. Les ELP et IF sériques sont présentés dans la Figure 1.

Tableau I Données des patients avec une gammapathie monoclonale IgG4. ELP = électrophorèse des protéines sériques ; IF = immunofixation sérique

	ELP	IF	IgG1 (g/L)	IgG2 (g/L)	IgG3 (g/L)	IgG4 (g/L)	IgGs (g/L)	IgGt (g/L)
Patient 1	Pic évalué à 12,0 g/L en gamma	Ig monoclonale IgGκ	7,75	6,41	0,383	7,73	22,273	16
Patient 2	Pic évalué à 13,3 g/L à cheval sur bêta-1 et bêta-2 (transferrine dosée à 2,74 g/L)	Ig monoclonale IgGκ	9,59	8,1	0,316	7,06	25,066	16,8

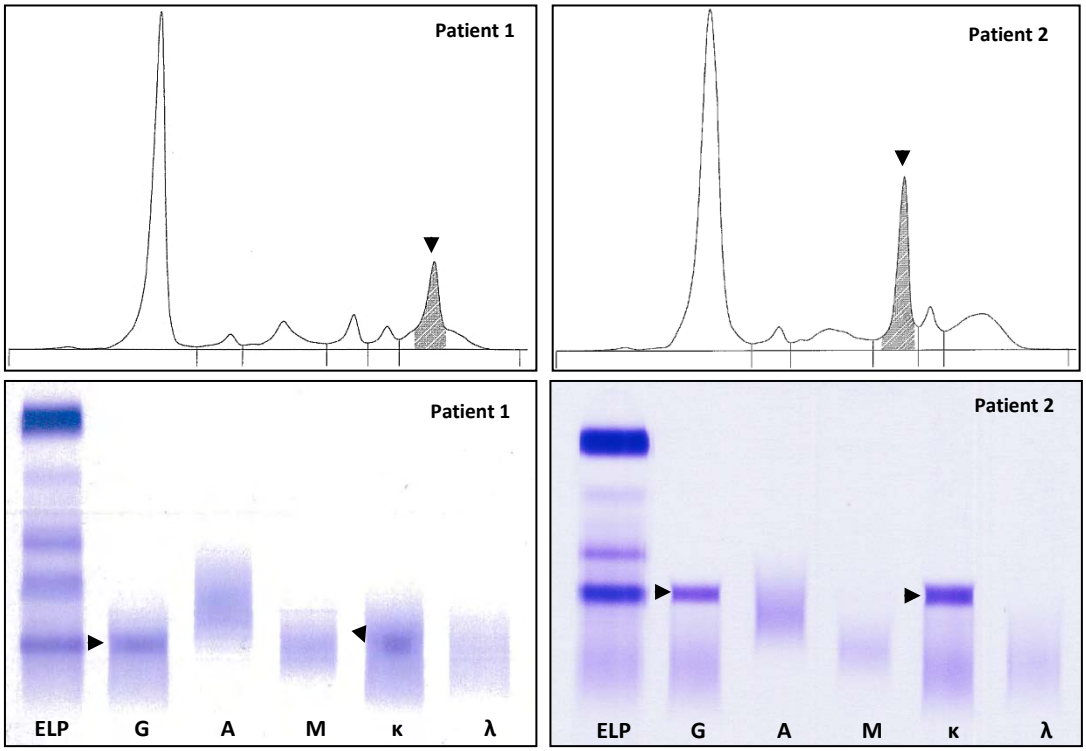


Figure 1 Electrophorégrammes et Immunofixations sériques des deux patients avec une gammapathie monoclonale IgG4. Flèches montrant la position de l'immunoglobuline monoclonale.

Les zones de migrations des IgG4 monoclonales n'étaient pas identiques. Pour le patient 1, le profil de migration était au début de la fraction γ. Pour le patient 2, la migration s'effectuait entre les zones β1- et β2-globulines.

3.1.2. Dans les pathologies retrouvant des IgG4 polyclonales

Les étiologies, les taux de sous-classes d'IgG et d'IgG totales des patients sélectionnés sont présentés dans le tableau II.

Tableau II Patients avec des IgG4 polyclonales. Diagnostic, taux d'IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, somme des sous-classes d'IgG (IgGs) et dosage des IgG totales (IgGt) en g/L. MAG4 = maladie associée aux IgG4 ; ANCA = anticorps anti-cytoplasme de polynucléaires neutrophiles

	Diagnostic	IgG1 (g/L)	IgG2 (g/L)	IgG3 (g/L)	IgG4 (g/L)	IgGs (g/L)	IgGt (g/L)
Patient 3	MAG4	16	6,25	3,26	23,5	49,01	39,1
Patient 4	MAG4	14,2	6,07	3,61	19,3	43,18	30,7
Patient 5	Parasitose à *Schistosoma mansoni*	18,9	14,5	1,66	9,84	44,9	35,46
Patient 6	MAG4	8,81	5,31	0,695	8,83	23,645	17,46
Patient 7	MAG4	8,69	9,39	5,13	8,69	31,9	16,2
Patient 8	MAG4	15	11,6	1,18	7,83	35,61	27,3
Patient 9	Pas de diagnostic définitif	9,61	9,73	0,537	6,38	26,257	19,34
Patient 10	MAG4	11,6	5,92	1,06	6,2	24,78	18
Patient 11	MAG4	6,39	5,26	0,66	4,44	16,75	12,3
Patient 12	Vascularite à ANCA	8,06	5,25	0,552	4,19	18,052	15,6
Patient 13	Allergie sévère aux acariens et pollens	4,61	1,62	0,184	1,82	8,234	7,34

Les électrophorèses des protéines sériques et les immunofixations sont présentées dans la Figure 2.

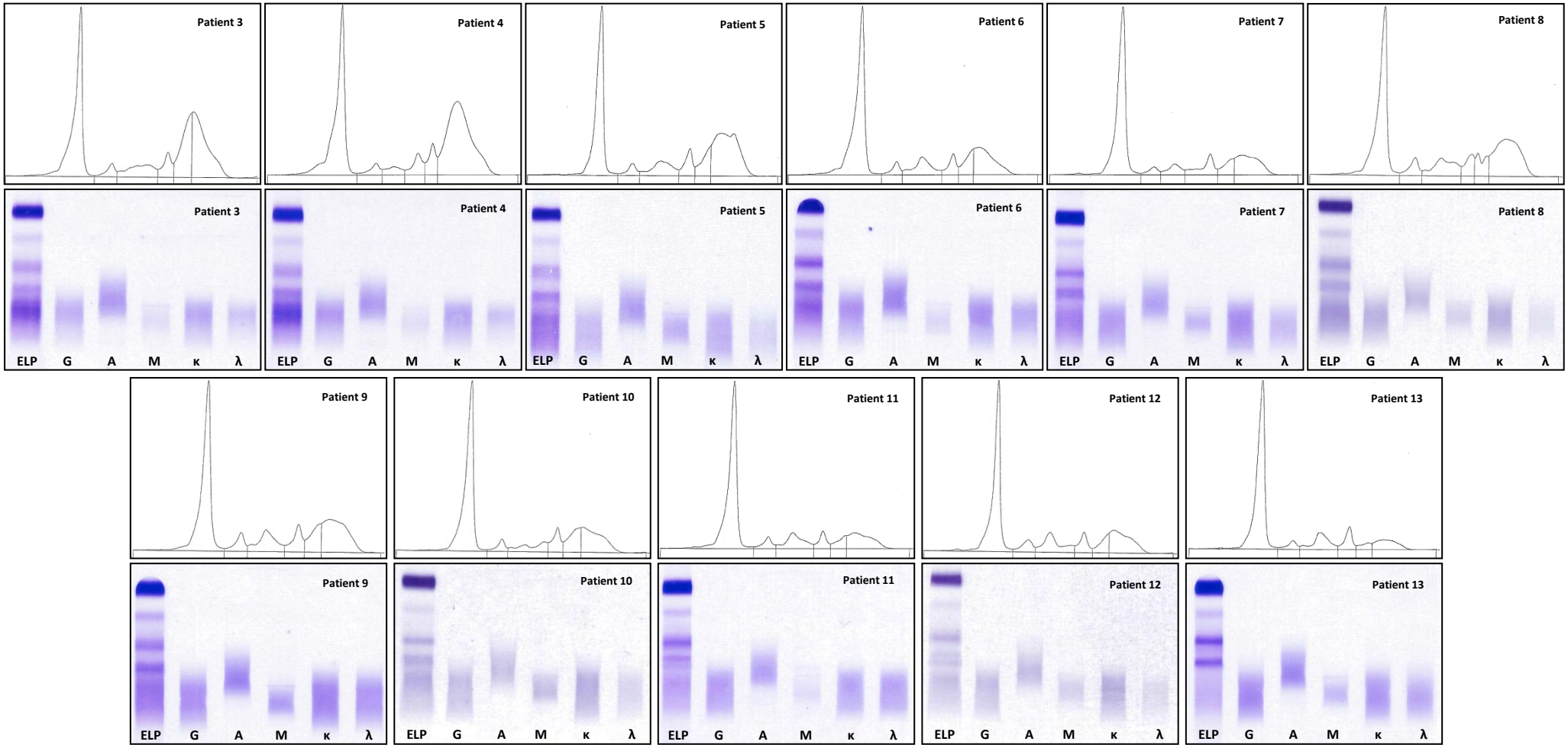


Figure 2 Electrophorégrammes et Immunofixations sériques pour chacun des patients avec des IgG4 polyclonales.

La zone de migration des IgG4 en ELP était restreinte au début de la fraction des γ-globulines, de manière nette, donnant l'aspect d'un bloc β-γ. Parfois une restriction d'hétérogénéité pouvait être observée. Sur l'IF, on ne distinguait pas de bande monoclonale, une restriction d'hétérogénéité éventuellement sur les profils où la concentration des IgG4 était très élevée (Patients 3 à 10, taux d'IgG4 6,2 à 23,5 g/L). Les patients 3 à 13 présentaient un taux d'IgG4 décroissant de 23,5 à 1,82 g/L. L'aspect observé diminuait avec le taux d'IgG4, confirmant sa présence à cet endroit.

3.2. Interférence analytique de l'eculizumab SOLIRIS

Pour l'étude du profil de migration des anticorps monoclonaux thérapeutiques qui sont de nature IgG4, l'étude bibliographique a révélé que seul l'eculizumab présentait une concentration à l'équilibre de l'ordre à potentiellement générer une interférence analytique sur les techniques de migration électrophorétiques comme le fait le daratumumab (van de Donk *et al.* 2016). Les concentrations maximales d'eculizumab observées chez des patients correctement traités pour un SHU atypique (où les posologies sont les plus élevées d'après les recommandations) allaient jusqu'à 700 mg/L chez l'adulte et 1100 mg/L chez l'enfant (Wijnsma *et al.* 2018) (Tableau IX de la Synthèse bibliographique). Seule l'interférence de l'eculizumab a donc été évaluée dans notre étude.

Les concentrations d'eculizumab libre circulant sont présentées dans le tableau ci-après (Tableau III), associées aux taux de chacun des sous-classes d'IgG et du taux d'IgG. Les ELP pour deux concentrations sont présentées dans la Figure 3.

Tableau III Concentrations d'eculizumab libre pour les prélèvements sériques utilisés pour l'électrophorèse des protéines sériques et l'immunofixation sérique. IgGs = somme des sous-classes IgG, IgGt = dosage des IgG totales

	Concentration eculizumab libre (mg/L)	IgG1 (g/L)	IgG2 (g/L)	IgG3 (g/L)	IgG4 (g/L)	IgGs (g/L)	IgGt (g/L)
Patient 14-1	1151	8,94	3,84	0,276	0,365	13,421	14,1
Patient 14-2	896	7,93	3,72	0,21	0,434	12,294	12,9
Patient 14-3	800	9,47	3,94	0,262	0,399	14,071	13,7
Patient 14-4	615	8,61	3,44	0,241	0,379	12,67	12,7
Patient 14-5	385	9,23	4,05	0,26	0,588	14,128	12,5
Patient 14-6	315	8,97	3,6	0,212	0,269	13,051	11,8

L'eculizumab est un anticorps monoclonal hybride IgG2/G4. La comparaison de la concentration de l'eculizumab libre avec les taux d'IgG4 et d'IgG2 pourrait nous laisser penser qu'il est compris dans le dosage des IgG2 compte tenu que les taux d'IgG4 sont plus faibles que ceux d'eculizumab libre.

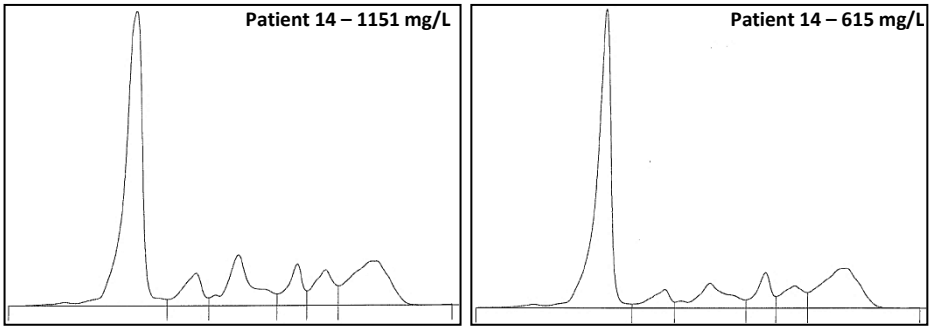


Figure 3 Electrophorégrammes des protéines sériques du patient aux concentrations 1151 mg/L et 615 mg/L d'eculizumab libre.

Les deux ELP obtenues ne montraient pas d'anomalie particulière, une restriction d'hétérogénéité pouvait être observée au niveau de la fraction γ. Bien que la concentration d'eculizumab libre fût différente, nous ne pouvions pas certifier sa position de migration. Les profils d'IF sériques obtenus pour chacune des concentrations sont présentés dans la Figure 4.

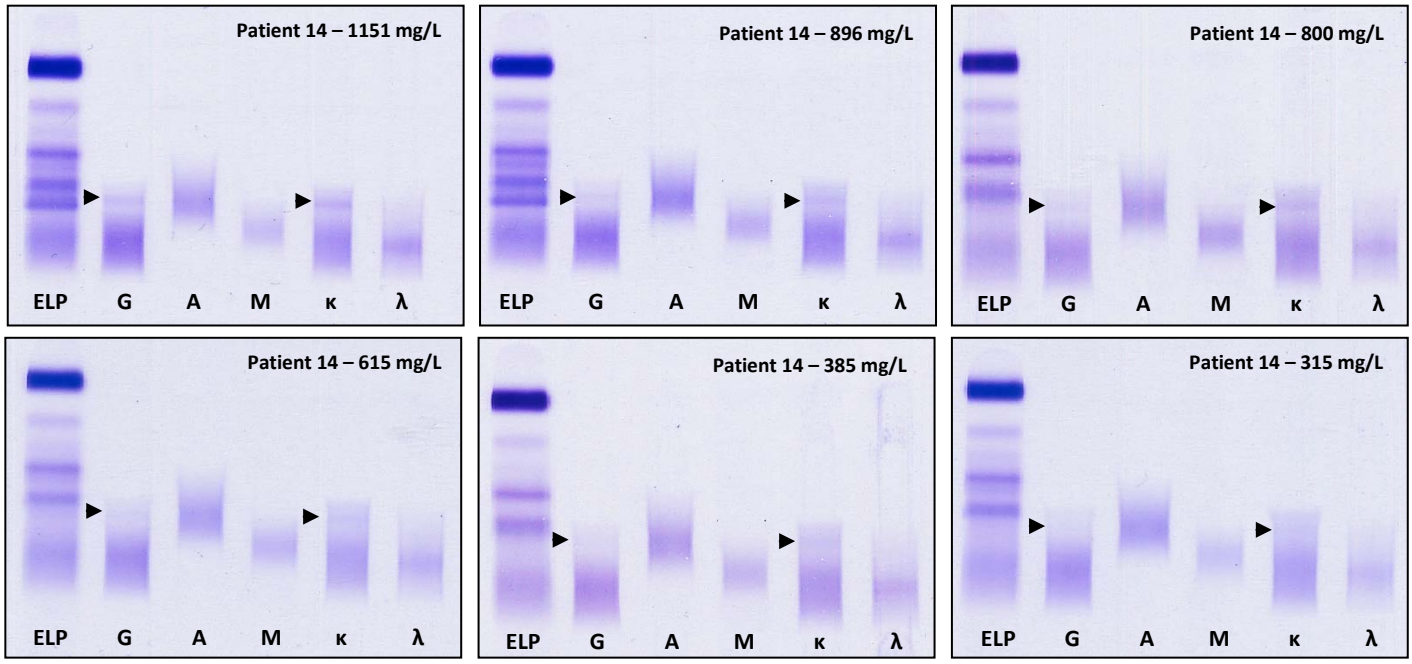


Figure 4 Immunofixations des protéines sériques pour le patient 14 à différentes concentrations d'eculizumab libre. Flèches montrant la position de l'immunoglobuline monoclonale.

Les six profils présentés dans le sens d'une décroissance de la concentration d'eculizumab libre, nous permettait de mettre en évidence une bande ayant l'aspect d'une immunoglobuline monoclonale de type IgGκ. Cette bande était d'autant plus marquée, que la concentration d'eculizumab libre augmentait.

3.3. Discordance entre le taux d'IgG totales (IgGt) et la somme des sous-classes d'IgG (IgGs)

Les données analysées provenaient de 3079 échantillons. Les moyennes, médianes et écart-types des différents dosages sont présentés dans le Tableau IV.

Tableau IV Moyennes, médianes et écart-types des dosages d'IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgG totales (IgGt) et de la somme des sous-classes d'IgG (IgGs).

	Moyenne	Médiane	Ecart-type
IgG1	5,59	4,93	3,15
IgG2	2,89	2,65	1,72
IgG3	0,62	0,50	0,48
IgG4	0,39	0,18	1,19
IgGs	9,49	8,73	4,87
IgGt	9,91	9,36	4,49

Une corrélation significative a été retrouvée entre les IgG totales et la somme des sous-classes d'IgG (coefficient de Pearson ρ =0,964, p<0,001), *cf.* Figure 5.

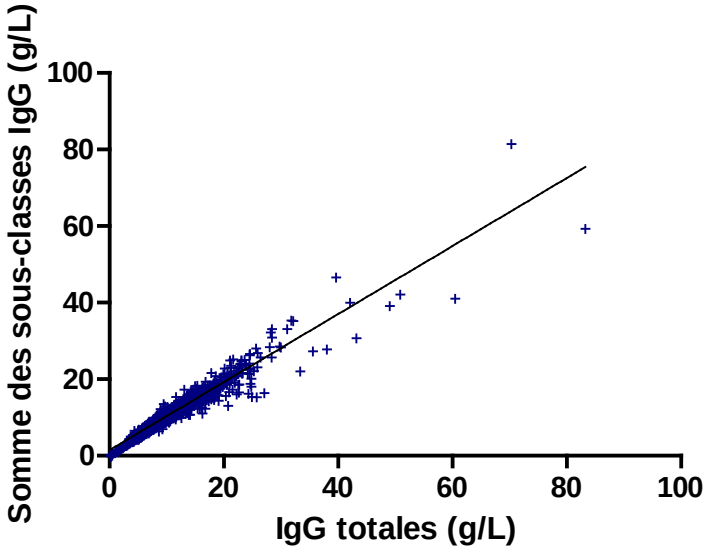


Figure 5 Diagramme de dispersion du taux d'IgG totales (IgGt) contre la somme des sous-classes d'IgG (IgGs) avec la droite de régression linéaire (y= 0,8884x + 0,004422, R^2 = 0,93, n=3079)

La somme des sous-classes était en moyenne 5,4% plus faible que le dosage des IgG totales (p<0,0001). IgGs est inférieur à IgGt dans 73,8% des dosages (2272) et est supérieur à IgGt dans 26,2% des dosages (807). Par ailleurs, un total de 197 échantillons (6,4%) avait une différence entre IgGs et IgGt : 154 échantillons avaient une différence ≤ 20% et 43 une différence ≥ 20%.

Nous avons considéré en premier lieu les dosages où IgGs > IgGt, en les séparant par palier de discordance. Soit %Diff(IgGs-IgGt) le pourcentage de différence entre IgGs et IgGt.

En dessous de 5% de différence, l'impact en pratique quotidienne était considéré comme nul et n'a donc pas été exploré. Le nombre de prélèvements par palier est présenté dans le Tableau V.

Tableau V Nombre de prélèvements par palier de différence entre la somme des sous-classes d'IgG (IgGs) et le dosage des IgG totales (IgGt)

Palier de différence (%)	n
5-10	228
10-15	94
15-20	29
20-25	13
>25	30

Pour chacune des sous-classes d'IgG, la répartition des prélèvements par palier est présentée dans la Figure 6.

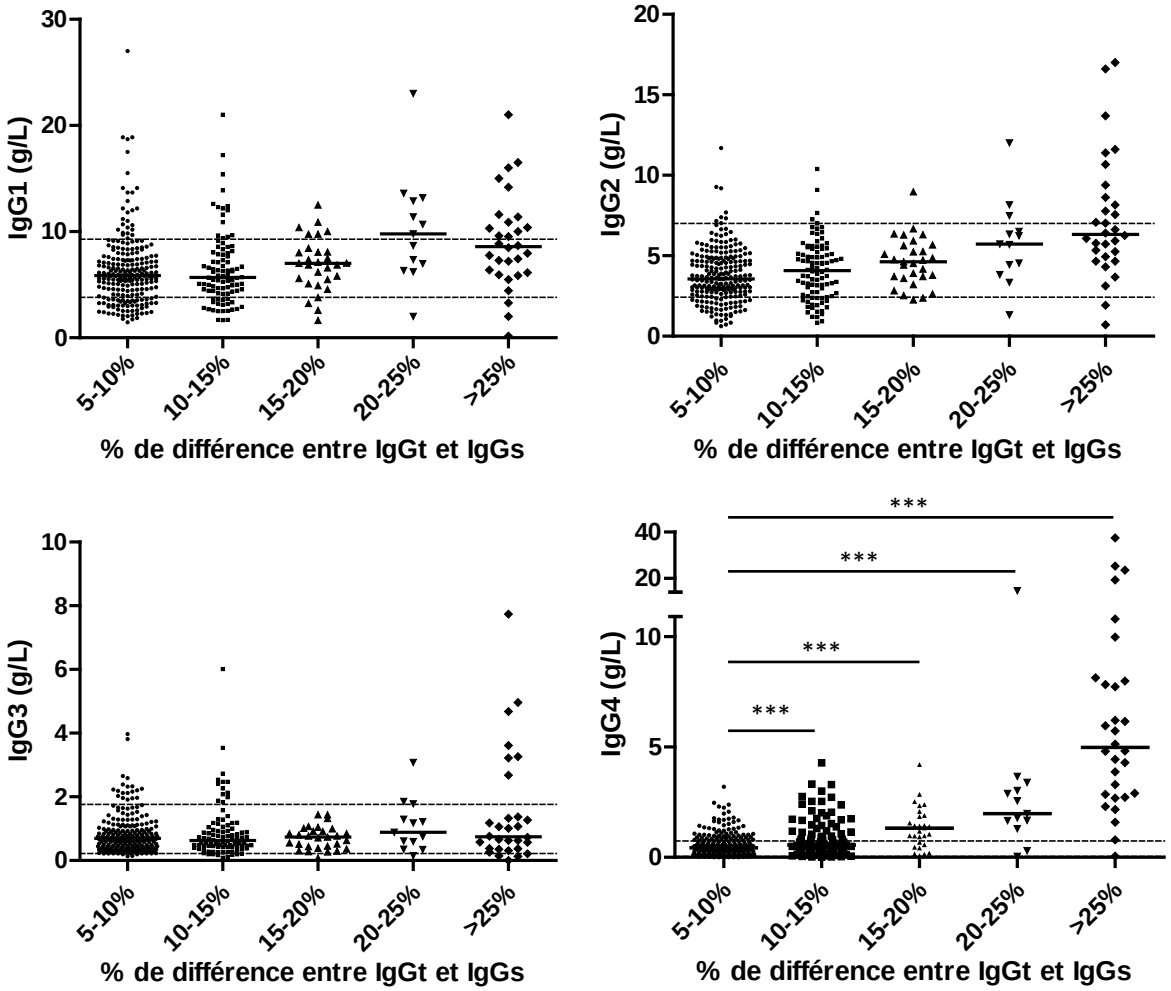


Figure 6 Représentation des taux d'IgG en fonction des pourcentages de différence entre le dosage des IgG totales (IgGt) et la somme des sous-classes d'IgG (IgGs). Barres horizontales pleines = médiane ; barres horizontales en pointillés = bornes de normalité. ***, p<0,001

D'après les données présentées dans la Figure 6, nous avons remarqué que les sous-classes IgG1, IgG2 et IgG3 étaient sensiblement dans les bornes de normalité quel que soit le pourcentage de différence entre IgGt et IgGs. *A contrario*, les IgG4 augmentaient de façon significative avec le pourcentage de différence. De plus la médiane du taux d'IgG4 était supérieure à la borne supérieure de normalité dès 15% de différence. Sur les 43 patients dont la différence était supérieure à 20%, 40 patients (93,0%) présentaient un taux d'IgG4 augmenté par rapport aux valeurs normales. Afin d'étayer cette observation, nous avons regardé la proportion de chacune des sous-classes pour chaque palier (Tableau VI et Figure 7).

Tableau VI Proportions médianes de chacune des sous-classes IgG aux différents paliers de discordance (en pourcentage)

Discordance (%)	5-10	10-15	15-20	20-25	>25
Proportion IgG1	55,0	52,1	51,0	50,7	35,3
Proportion IgG2	32,7	33,1	34,0	29,0	28,5
Proportion IgG3	7,3	7,3	5,3	5,4	5,9
Proportion IgG4	5,0	7,5	9,8	14,9	30,2

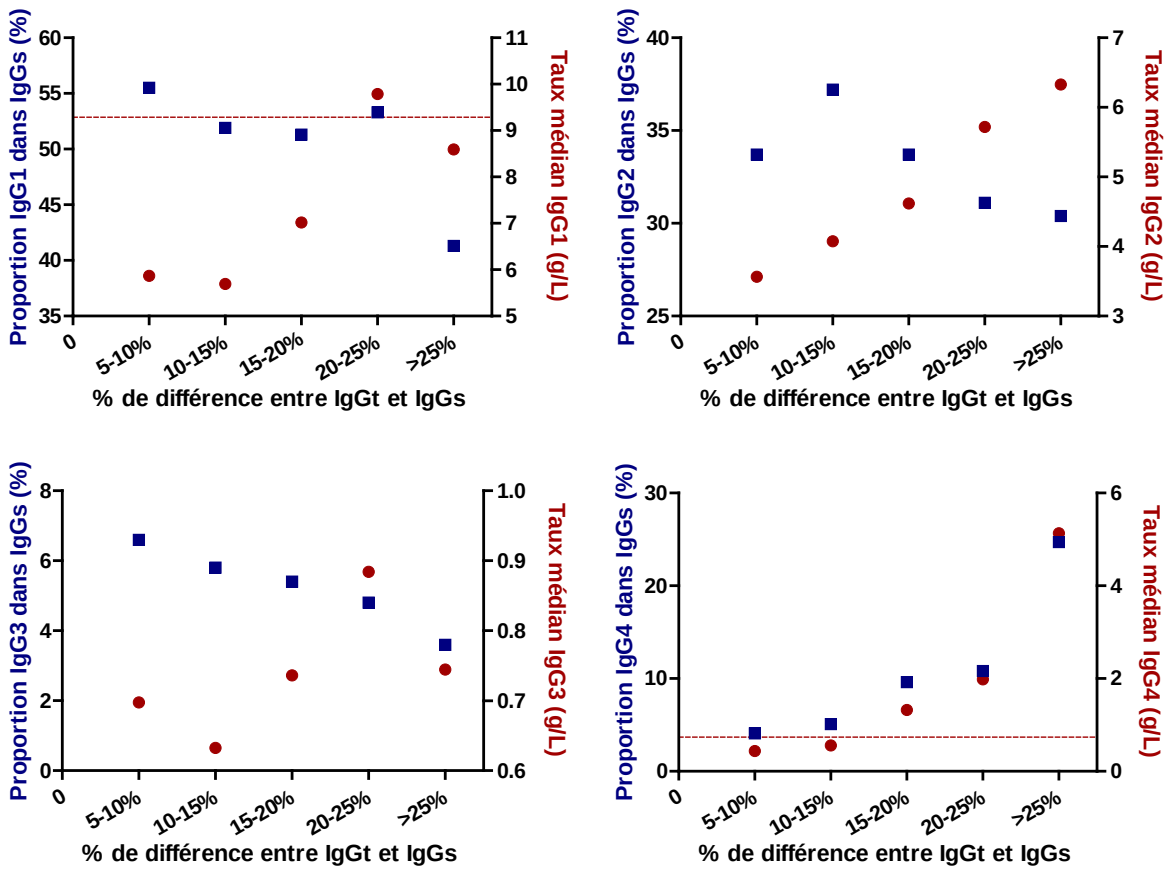


Figure 7 En rouge : Médiane du taux de l'IgG considérée pour les différents paliers. Les pointillés présents pour les IgG1 et les IgG4 représentent la borne supérieure de normalité. Cette limite est supérieure à la valeur limite de l'axe pour les IgG2 et les IgG3. **En bleu : Proportion médiane de la sous-classe considérée dans IgGs pour les différents paliers.**

Pour la sous-classe **IgG1**, part majoritaire des sous-classes d'IgG, nous avons observé un pourcentage relativement stable parmi l'ensemble des sous-classes jusqu'à 25% de différence entre IgGs et IgGt. Le pourcentage d'IgG1 diminuait fortement au-delà de 25%.

Pour la sous-classe **IgG2**, dont le taux médian augmentait modérément avec le %Diff(IgGs-IgGt), sans sortir des bornes de normalité, la proportion au sein de l'ensemble des sous-classes ne semblait pas varier énormément.

Pour la sous-classe **IgG3**, dont le taux médian restait très faible et peu fluctuant, la proportion au sein de l'ensemble des sous-classes ne semblait pas varier énormément.

A contrario, pour la sous-classe **IgG4**, dont le taux médian augmentait significativement avec le %Diff(IgGs-IgGt), la proportion au sein de l'ensemble des sous-classes semblait suivre la même tendance que le taux médian. Nous avons souhaité vérifier le caractère exponentiel de cette tendance (Figure 8).

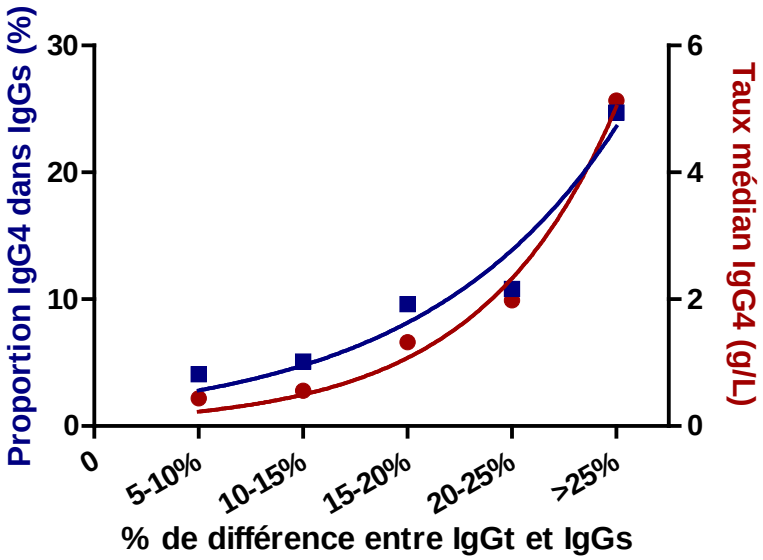


Figure 8 Courbes de tendance exponentielles du taux médian (en g/L) **et de la proportion d'IgG4** (en %) R^2 = 0,9840 pour le taux médian et 0,9468 pour la proportion

Nous observons bien une tendance exponentielle pour les deux courbes de tendance dont le R^2 est proche de 1.

En réunissant les quatre sous-classes d'IgG sur un même graphique, nous avons constaté que la proportion des IgG4 augmentait de façon exponentielle avec le pourcentage de discordance. Au-delà de 25%, une diminution de la proportion des IgG1 au profit des IgG4 a été observée (Figure 9). Les taux d'IgG2 et d'IgG3 étaient stables.

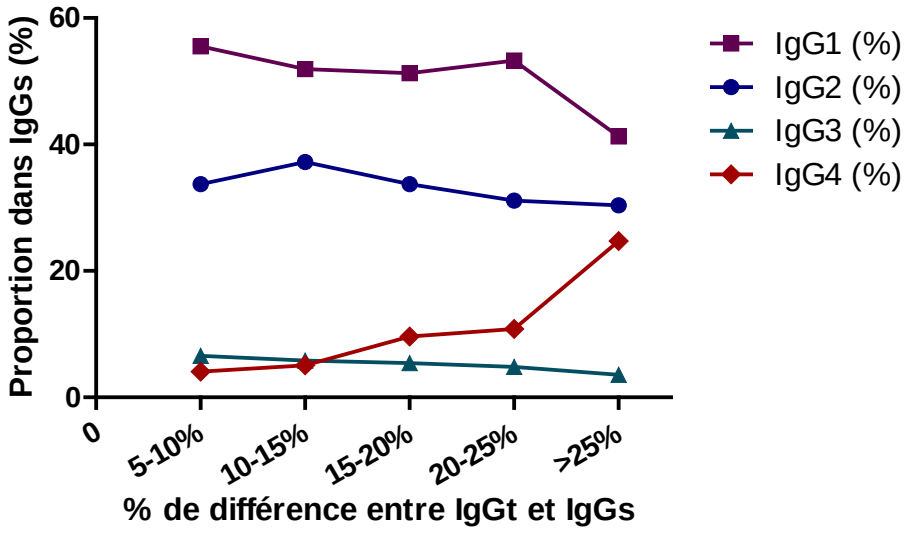


Figure 9 Proportions médianes de chacune des sous-classes d'IgG par palier de différence entre le dosage des IgG totales (IgGt) et la somme des sous-classes d'IgG (IgGs)

Pour tenter de démontrer l'impact d'une ou de plusieurs sous-classes, nous avons comparé IgGt avec la somme de 3 des 4 sous-classes (ex : la somme de IgG1+IgG2+IgG3, est nommée IgGs-$_{G4}$). Les résultats sont présentés dans la figure 10.

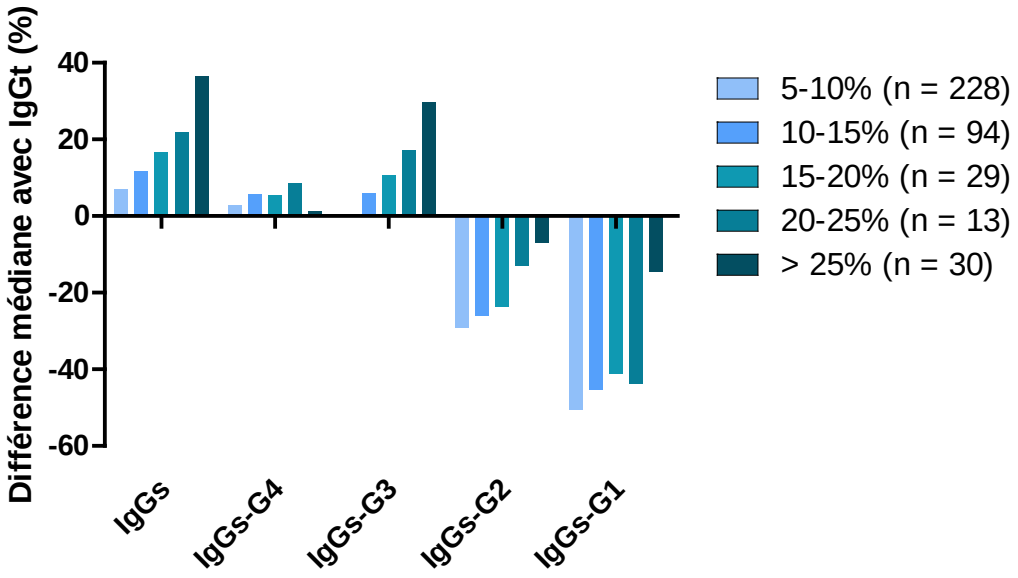


Figure 10 Pourcentages de différence de la somme de 3 des 4 sous-classes avec le dosage des IgG totales selon le palier de différence initial. Somme des sous-classes IgG (IgGs) ; somme des sous-classes IgG1 à 3 (IgGs-G4) ; somme des sous-classes IgG1, 2 et 4 (IgGs-G3) ; somme des sous-classes IgG1, 3 et 4 (IgGs-G2) et somme des sous-classes IgG2 à 4 (IgGs-G1).

La différence par palier augmentait : la médiane du palier entre 5 et 10% était de 7,0% ; la médiane du palier entre 10 et 15% était de 11,6%, la médiane du palier entre 15 et 20% était de 16,5%, la médiane du palier entre 20 et 25% était de 21,8% et celle du palier au-delà de 25% était de 36,5%.

Si on soustrait les **IgG4** à IgGs, on observe que le pourcentage de différence avec IgGt diminue de façon importante, passant de 7,0 à 1,8% pour le palier 5-10%, de 11,6 à 5,7% pour le palier 10-15%, de 16,5 à 5,4% pour le palier 15-20%, de 21,8 à 8,5% pour le palier 20-25% et de 36,5 à 1,1% pour le palier au-delà de 25%. Cette différence n'est pas observée pour les IgG3. Pour les **IgG2** et les **IgG1**, dont la représentativité est majoritaire, leur soustraction donne des valeurs négatives de différence alors que nous considérons que les dosages où IgGs > IgGt Nous confirmons l'impact majoritaire des IgG4 dans le %Diff(IgGs-IgGt), d'autant plus que la différence est élevée.

La comparaison des écarts absolus de ces pourcentages médians de différence avec la proportion de la sous-classe manquante, par palier, semble confirmer l'impact majoritaire des IgG4 dans le %Diff(IgGs-IgGt), d'autant plus que la différence est élevée. Aux différences élevées, nous retrouvons également l'impact des IgG3 dans une moindre mesure, voire des IgG2 à la marge (données supplémentaires, Figure S13).

Nous avons ensuite investigué les diagnostics des patients où la discordance est supérieure à 20% (Figure 11).

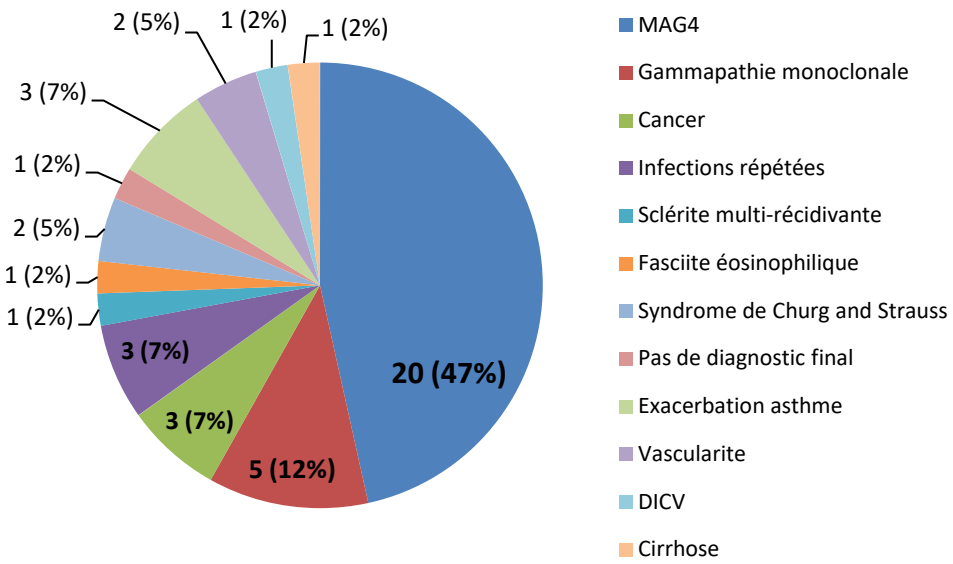


Figure 11 Répartition des diagnostics établis chez les patients dont les dosages des IgG totales et des sous-classes d'IgG retrouvaient une différence de plus de 20% (n=43)

La MAG4 représente près de 50% des diagnostics, et même près des deux tiers si on ne considère que les discordances de plus de 25% (données supplémentaires, Figure S14).

3.4. Revue de prescription des sous-classes d'IgG

Le nombre de prescriptions de dosages de sous-classes d'IgG était en augmentation entre 2015 et 2018. Les estimations pour 2019 à partir des données recueillies au 31 juillet 2019 semblaient indiquer une poursuite de l'augmentation (Tableau VII, Figure 12).

Une revue de prescription a été mise en place en 2018 au laboratoire. Cette revue de prescription a été instaurée devant le nombre grandissant de prescriptions et la constatation de contextes cliniques ne justifiant pas ce dosage. En 2018 ont été annulées 485 demandes et 231 au 31 juillet 2019, soit 37% et 32% respectivement. Depuis la mise en place de la revue de prescription, 35% des demandes en moyenne ont été annulées.

Tableau VII Répartition du nombre de prescriptions et d'annulations par année ainsi que le pourcentage représenté de ces annulations sur le volume global. Pour 2019, données au 31 juillet.

Année	Nombre de prescriptions	Nombre d'annulations	Pourcentage (%)
2015	692	12	1,7
2016	831	12	1,4
2017	1017	9	0,9
2018	1304	485	37,2
2019	724	231	31,9
Total	4568	749	

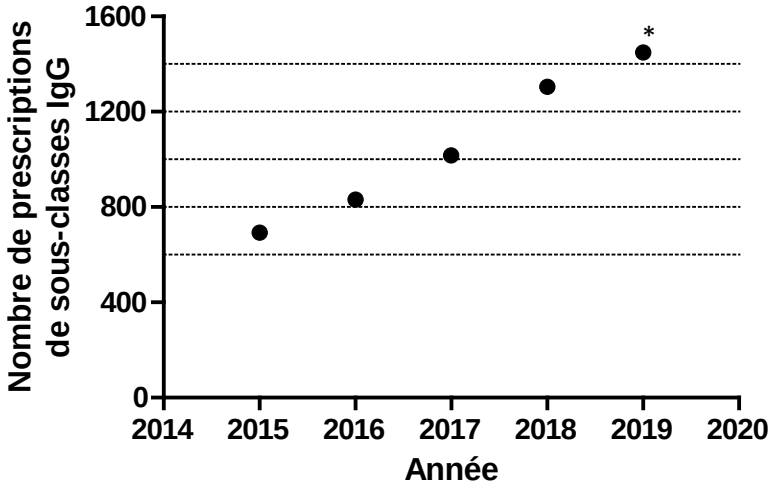
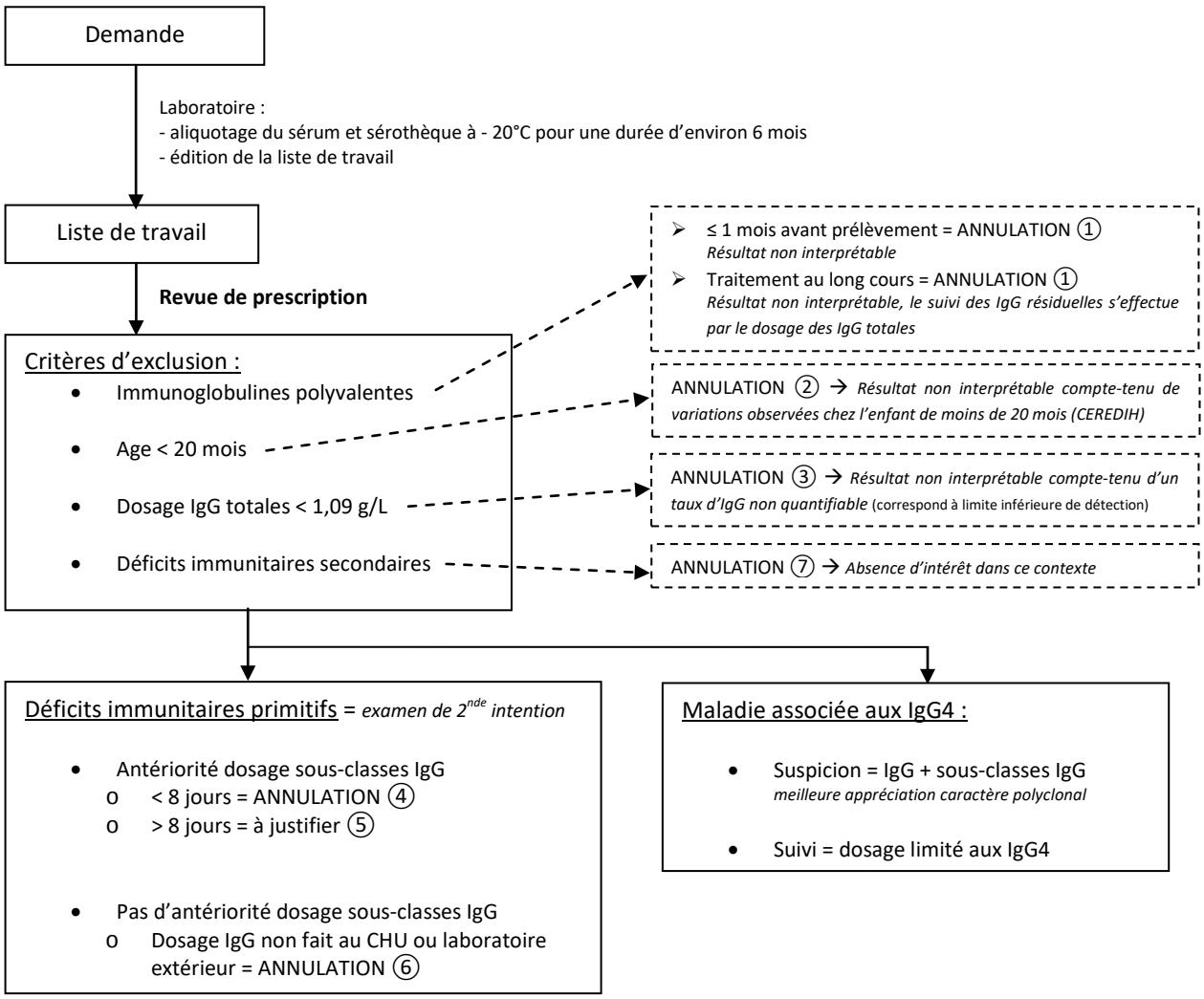


Figure 12 Nombre de prescriptions de dosages de sous-classes d'IgG au CHU de Bordeaux (* pour 2019, estimation par rapport aux données au 31 juillet 2019)

La revue de prescription débutée en 2018 n'est pas encore codifiée au laboratoire d'Immunologie du CHU de Bordeaux. La HAS distingue les « recommandations de bonne pratique » qui déclinent l'ensemble des interventions diagnostiques ou thérapeutiques à envisager pour une pathologie et les « recommandations de bon usage » qui sont centrées sur un acte ou un produit de santé. C'est ce que nous avons souhaité mettre en place au moyen d'une fiche de renseignements cliniques à destination des services prescripteurs, et d'un logigramme d'annulation des demandes au laboratoire. La fiche de renseignements cliniques sera à joindre obligatoirement au bon de demande.

3.4.1. Logigramme de revue des prescriptions des sous-classes d'IgG



Commentaires d'annulation sur les comptes-rendus :

① Analyse annulée compte-tenu du contexte d'injection d'immunoglobulines polyvalentes de moins d'un mois rendant le résultat ininterprétable. Le suivi des immunoglobulines résiduelles s'effectue par un dosage des IgG totales.

② Analyse annulée, les sous-classes d'IgG étant ininterprétables avant l'âge de 20 mois compte-tenu de variations en lien avec la persistance d'IgG maternelles et la maturation du système immunitaire. Conformément aux recommandations en vigueur du CEREDIH.

③ Analyse annulée dans un contexte d'IgG connues non quantifiables, rendant l'interprétation des sous-classes d'IgG difficile.

④ Analyse annulée compte-tenu d'antériorités datant de moins de 8 jours concernant ce dosage.

⑤ Analyse annulée compte-tenu d'antériorités connues concernant ce dosage.

⑥ Analyse annulée devant l'absence de dosage d'IgG totales. Le dosage des sous-classes d'IgG est un examen de seconde intention pour l'exploration des déficits immunitaires. Le sérum est conservé en sérothèque si nécessaire. Merci de contacter le laboratoire afin de justifier la demande (poste 72741).

⑦ Analyse annulée devant l'absence de renseignements cliniques justifiant la demande. Le sérum est conservé en sérothèque si le contexte clinique nécessite la réalisation du dosage. Merci de contacter le laboratoire afin de justifier la demande (poste 72741).

3.4.2. Fiche de renseignements nécessaires au dosage des sous-classes d'IgG

A joindre impérativement au bon de demande

En l'absence de renseignements cliniques justifiant la demande, l'analyse ***ne sera pas réalisée.***

Critères d'annulation systématique

- Traitement par immunoglobulines polyvalentes ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Enfant < 20 mois ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Dosage IgG totales < 1,09 g/L ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Déficit immunitaire secondaire *(immunosuppresseurs…)* ☐ **NON** ☐ **OUI**

Suspicions de déficit immunitaire primitif

Le dosage des sous-classes d'IgG est un examen de seconde intention dans l'exploration des déficits immunitaires, conformément aux recommandations en vigueur du CEREDIH (www.ceredih.fr).

- Dosage IgG déjà effectué ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (valeur : ……g/L)
- Dosage des sous-classes d'IgG déjà effectué ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (date : ……)
  Si oui, justification : ……
  ……

Maladie associée aux IgG4

- Suspicion de MAG4 ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (atteinte(s) : ……..)
- Suivi de MAG4 ? ☐ **NON** ☐ **OUI**

Autres : à justifier

……
……
……
……
……

<u>Remarque :</u> le sérum est conservé pour une durée d'environ 6 mois pour complément d'analyse si nécessaire.

La version au format qualité pour le Pôle de Biologie Pathologie du CHU de Bordeaux est présentée en annexe (Figure S15).

4. Discussion

Avec la première publication décrivant la pancréatite auto-immune (PAI), Hamano *et al.* (Hamano *et al.* 2001) montre une corrélation positive entre l'atteinte clinique des patients et la présence d'un bloc β-γ à l'ELP. Ce n'est que plus tard, avec la mise au point de techniques d'immunofixations avec des anti-sérums spécifiques de chaque sous-classe, que ce bloc a été associé avec l'augmentation du taux d'IgG4. L'utilisation de sérums présentant des taux d'IgG4 croissants nous a permis de conforter l'association d'un tel profil avec l'augmentation des IgG4. Cet aspect était observable quelle que soit l'étiologie des augmentations (parasitose, vascularite, allergie sévère, MAG4) que nous avons étudiées et concerne les IgG4 polyclonales. Cette observation était clairement visible à partir d'un taux entre 1,82 et 4,19 g/L, c'est à dire des concentrations importantes. Entre le 1er janvier 2015 et le 31 juillet 2019, cela représenterait 100 échantillons sur les 3079 (soit 3,2%) reçus au laboratoire. La fréquence d'un taux d'IgG4 à partir duquel l'IgG4 est visible à l'ELP et pouvant donc interférer semble faible mais ne doit pas être méconnue en pratique quotidienne. L'observation de ce profil en bloc β-γ à l'ELP en l'absence de contexte de cirrhose doit alerter le biologiste qui doit penser à une augmentation polyclonales des IgG4 circulantes.

Les IgG4 sont également impliquées dans les interférences des méthodes de quantification. Nous avons montré l'implication de l'IgG4 dans les différences IgGs > IgGt pour les patients atteints de MAG4, entité pathologique caractérisée par des IgG4 polyclonales. Les données démontrent que la discordance entre la somme des sous-classes d'IgG dosées par les réactifs de The Binding Site et les IgG totales dosées avec les réactifs Siemens, est plutôt fréquente. Elle est observée quels que soient les réactifs utilisés comme rapporté par l'évaluation externe de la qualité UK-NEQAS (Sheffield Teaching Hopital NHS 2019). Quand IgGs est supérieur à IgGt, phénomène semble caractérisé par une augmentation des IgG4. Enfin, nous ne savons pas si les réactifs sont à même de reconnaître l'eculizumab.

Le fournisseur indique qu'une différence entre IgGs et IgGt est possible jusqu'à 20% (quel que soit le sens de la différence). Nous avons observé un grand nombre d'échantillons pour lesquels la discordance est supérieure à ce seuil (197 sur 3079, soit 6,4% en 4 ans et demi). La littérature ne permet pas de retrouver d'explication mais nous pouvons supposer qu'elle résulte soit d'un défaut de reconnaissance d'une ou plusieurs sous-classes du réactif dosant les IgG totales (par manque d'anticorps dirigés contre une ou plusieurs sous-classes, ou bien par manque de sensibilité des anticorps du réactif) ; soit d'un manque de spécificité du réactif permettant de doser les sous-classes d'IgG. Nous retenons l'hypothèse selon laquelle le réactif du dosage des IgGt (NAS IgG, Siemens) est mis en défaut par un manque de reconnaissance des IgG4 polyclonales et qui serait lié à leur mode de production (immunisation de lapin avec des pools d'IgG totales humaines hautement purifiées mais

naturellement pauvres en IgG4). Des études complémentaires seraient nécessaires. Pour confirmer cette hypothèse, des expériences consistant à ajouter à un pool de sérums de patients sans anomalie, des concentrations croissantes connues d'IgG4 (dont nous nous serions assurés du caractère polyclonal) pourraient être intéressantes. Notre étude s'est focalisée sur les discordances où IgGs>IgGt : des analyses complémentaires sont nécessaires pour étudier IgGs<IgGt.

La nature structurale de l'IgG4 pourrait conditionner les interférences analytiques observées. Les deux patients présentant une gammapathie monoclonale de type IgG4 présentaient bien un pic à l'ELP et une bande nette à l'IF dans des zones attendues des IgG4 polyclonales. Leurs deux profils n'étaient pas comparables. Cette migration atypique pourrait s'expliquer par un clone modifié, en termes de glycosylation par exemple ou de *Fab-Arm Exchange*. Un typage systématique des immunoglobulines monoclonales de type IgG pourrait être effectué afin de connaître le sous-type et définir ainsi la prévalence exacte des gammapathies à IgG4. Une équipe américaine avait montré que la fréquence des gammapathies monoclonales IgG4 était le reflet de la proportion moyenne de la sous-classe au sein des IgG totales (Geyer et al. 2014), soit 4 à 5%. Ces données n'ont pas été retrouvées dans la littérature. Néanmoins, en l'état actuel des connaissances, il n'y a pas d'intérêt clinique à connaître le sous-type d'IgG impliqué dans le myélome. En effet, la relation entre le sous-type d'IgG et les résistances aux traitements ou avec des rechutes plus fréquentes n'est pas décrite aujourd'hui.

En partant de l'interférence du daratumumab, nous avons montré que l'eculizumab, seul anticorps de nature IgG4 dont les concentrations circulantes de la forme libre peuvent dépasser 300 mg/L pouvait interférer avec l'IF. L'observation que nous avons faite a été montrée par deux équipes (Röth *et al.* 2011; Willrich *et al.* 2016). L'objectif thérapeutique est de maintenir une concentration plasmatique d'eculizumab supérieure à 100 mg/L, taux permettant une inhibition adéquate de la voie terminale du complément. Précisons que selon la monographie de produit, une concentration plasmatique d'au moins 35 mg/L en cas d'hémoglobinurie paroxystique nocturne et de 50 à 100 mg/L en cas de SHU est recommandée (Alexion Pharma, 2016). Toutefois, l'eculizumab ne semble visible qu'à partir de 300 mg/L d'eculizumab libre. L'impact de l'interférence liée à l'eculizumab est moindre que celle liée au daratumumab car les populations cibles ne sont pas les mêmes. La probabilité qu'un patient traité au long cours par eculizumab ait une prescription d'ELP est plus faible qu'un patient suivi pour le traitement de myélome par daratumumab. L'interférence générée par les anticorps monoclonaux thérapeutiques reste malgré tout une possibilité à garder en mémoire pour un biologiste interprétant les examens d'ELP et d'IF. En effet, conclure à la présence d'une anomalie monoclonale peut être lourd de conséquences. Il pourrait être intéressant de compléter nos données en évaluant l'interférence des autres anticorps monoclonaux de nature IgG4.

Au regard de l'augmentation de la prescription depuis plusieurs années, une aide à la prescription clinique et un algorithme pour la revue de prescription au laboratoire ont été conçues à partir des données rétrospectives. Aussi, une évaluation prospective sur les prochains mois est nécessaire afin de s'assurer de leur caractère opérationnel, de commencer à juger de leur efficacité et de mieux apprécier leur impact potentiel. Cette étude sera menée en concertation avec les équipes soignantes au sein d'un contrat clinico-biologique.

5. Conclusion

La mise en regard de profils électrophorétiques avec des augmentations d'IgG4 polyclonales de patients nous a permis de montrer que cette migration est située au tout début de la fraction γ de l'ELP, apparaissant entre les fractions β2 et γ. Ce profil peu commun peut conduire le biologiste à rendre un aspect de bloc βγ. C'est le contexte clinique associé à l'IF sérique et au dosage quantitatif des sous-classes d'IgG qui permettront de lever le doute. En cas d'anomalie monoclonale de type IgG4, l'interférence est aléatoire. Parmi les anticorps monoclonaux thérapeutiques de type IgG4, seul l'eculizumab présente une concentration circulante à l'équilibre en mesure d'interférer sur l'IF sérique. Non repérable à l'ELP, la présence d'une anomalie monoclonale de type IgG à l'IF entre les fractions β2 et γ devra faire rechercher le contexte clinique et la prise éventuelle d'eculizumab.

Avant validation biologique du résultat du dosage des sous-classes d'IgG, le biologiste repèrera les discordances importantes par le calcul de la somme des quatre sous-classes et en le comparant au dosage des IgG totales. La mise en regard des renseignements cliniques l'orientera possiblement vers une MAG4 dans le cas de fortes discordances où la somme est supérieure à 20% par rapport aux IgG totales. Toute différence importante devra être investiguée dans l'attente d'une éventuelle amélioration des réactifs par les fournisseurs.

Enfin, nous avons proposé des recommandations de bon usage du dosage des sous-classes d'IgG élaborées au laboratoire d'Immunologie pour améliorer les pratiques et satisfaire les exigences économiques de la juste prescription.

6. Références bibliographiques

Aalberse, R. C., S. O. Stapel, J. Schuurman, et T. Rispens. 2009. « Immunoglobulin G4: An Odd Antibody ». *Clinical & Experimental Allergy* 39(4):469‑77.

van de Donk, Niels W. C. J., Henny G. Otten, Omar El Haddad, Amy Axel, A. Kate Sasser, Sandra Croockewit, et Joannes F. M. Jacobs. 2016. « Interference of Daratumumab in Monitoring Multiple Myeloma Patients Using Serum Immunofixation Electrophoresis Can Be Abrogated Using the Daratumumab IFE Reflex Assay (DIRA) ». *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 54(6):1105‑9.

Finn, William G., Ronald Gulbranson, Sondra Fisher, Lynn Rae Sample, Renee Shalhoub, Deborah Hedstrom, et David F. Keren. 2016. « Detection of Polyclonal Increases in Immunoglobulin G4 Subclass by Distinct Patterns on Capillary Serum Protein Electrophoresis: Diagnostic Pitfalls and Clinical Observations in a Study of 303 Cases ». *American Journal of Clinical Pathology* 146(3):303‑11.

Geyer, Julia T., Ruben Niesvizky, David S. Jayabalan, Susan Mathew, Shivakumar Subramaniyam, Alexander I. Geyer, Attilio Orazi, et Scott A. Ely. 2014. « IgG4 Plasma Cell Myeloma: New Insights into the Pathogenesis of IgG4-Related Disease ». *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 27(3):375‑81.

Hamano, Hideaki, Kawa Shigeyuki, Horiuchi Akira, Unno Hiroshi, Furuya Naoyuki, Akamatsu Taiji, Fukushima Mana, Nikaido Toshio, Nakayama Kohzo, Usuda Nobuteru, et Kiyosawa Kendo. 2001. « High Serum IgG4 Concentrations in Patients with Sclerosing Pancreatitis ». *The New England Journal of Medicine* 7.

Jacobs, Joannes F. M., Renate G. van der Molen, et David F. Keren. 2014. « Relatively Restricted Migration of Polyclonal IgG4 May Mimic a Monoclonal Gammopathy in IgG4-Related Disease ». *American Journal of Clinical Pathology* 142(1):76‑81.

Röth, Alexander, Christina Hock, Anna Konik, Sandra Christoph, et Ulrich Dührsen. 2011. « Chronic Treatment of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Patients with Eculizumab: Safety, Efficacy, and Unexpected Laboratory Phenomena ». *International Journal of Hematology* 93(6):704‑14.

Sheffield Teaching Hopital NHS. 2019. « UK NEQAS for Immunology, Immunochemistry and Allergy ». Consulté 20 août 2019 (https://www.immqas.org.uk/Default.asp?ID=308).

Tang, Felicia, Ehsan Malek, Susan Math, Christine L. Schmotzer, et Rose C. Beck. 2018. « Interference of Therapeutic Monoclonal Antibodies With Routine Serum Protein Electrophoresis and Immunofixation in Patients With Myeloma: Frequency and Duration of Detection of Daratumumab and Elotuzumab ». *American Journal of Clinical Pathology* 150(2):121‑29.

Wijnsma, Kioa L., Caroline Duineveld, Jack F. M. Wetzels, et Nicole C. A. J. van de Kar. 2018. « Eculizumab in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: Strategies toward Restrictive Use ». *Pediatric Nephrology*.

Willrich, Maria Alice V., Paula M. Ladwig, Bruna D. Andreguetto, David R. Barnidge, David L. Murray, Jerry A. Katzmann, et Melissa R. Snyder. 2016. « Monoclonal Antibody Therapeutics as Potential Interferences on Protein Electrophoresis and Immunofixation ». *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 54(6).

7. Annexes et données supplémentaires

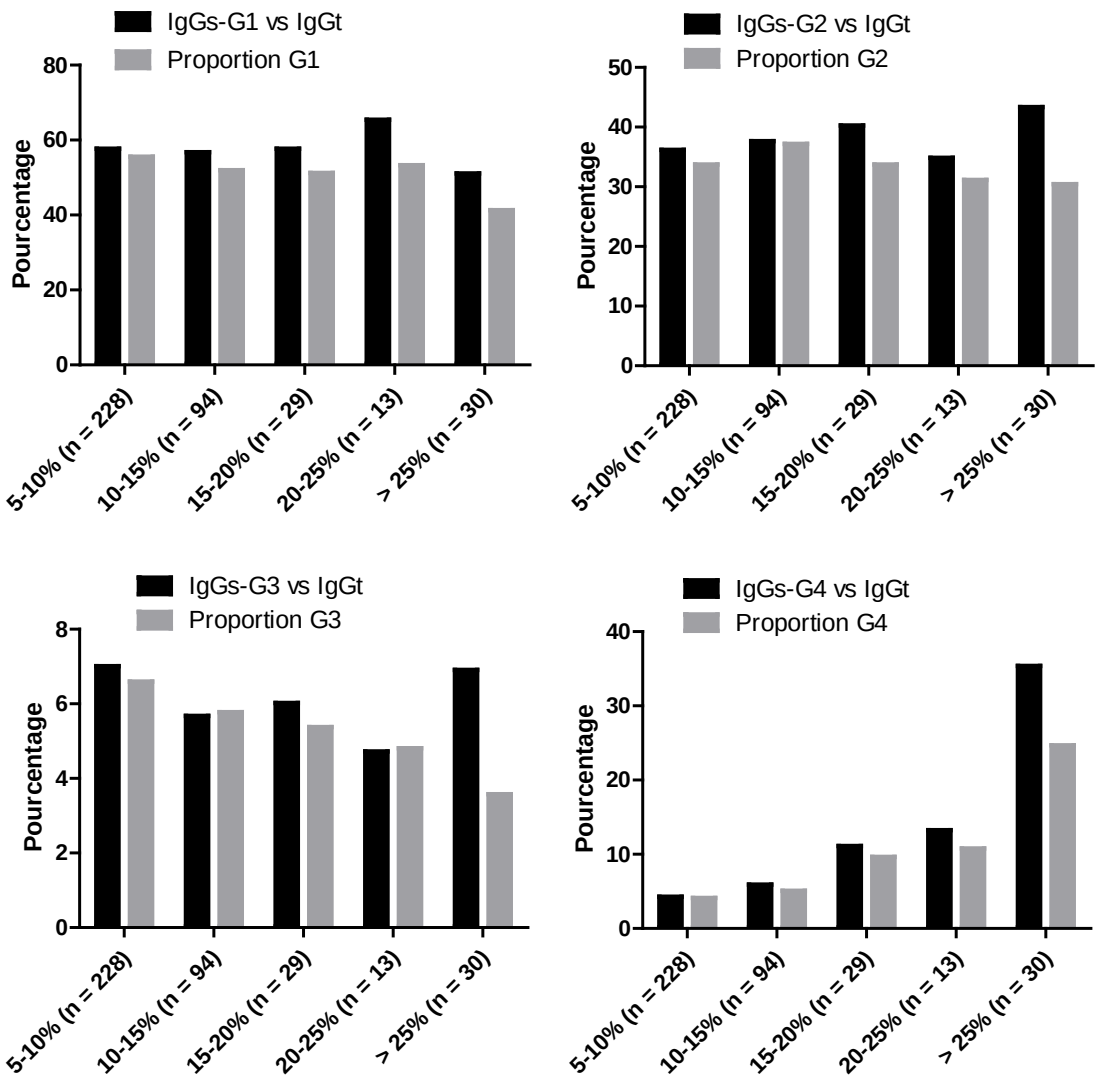


Figure S13 Représentation des comparaisons en pourcentages entre la différence médiane absolue de la somme de trois sous-classes et la proportion médiane de la sous-classe manquante. Pour chacune des sous-classes d'IgG.

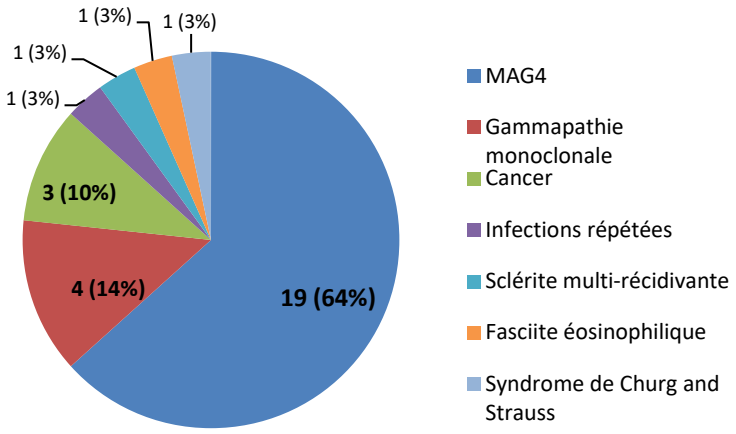


Figure S14 Répartition des diagnostics établis chez les patients dont les dosages des IgG totales et des sous-classes d'IgG retrouvaient une différence de plus de 25% (n=30)

CHU Hôpitaux de Bordeaux	Entité d'application : Unités de soins Emetteur : PBP-P1A Laboratoire d'Immunologie et d'Immunogénétique	EN-LAB- XX
	ENREGISTREMENT	Ind 01 Page : 1/1

Fiche de renseignements nécessaires au dosage des sous-classes d'IgG

*A joindre **impérativement** au bon de demande*
*En l'absence de renseignements cliniques justifiant la demande, **l'analyse ne sera pas réalisée**.*

Contact laboratoire d'Immunologie : 72741

Etiquette du malade ou
Nom d'usage : .....
Nom de famille (de naissance) : .....
Prénom : .....
Sexe : .....
Date de naissance : ..... / ..... / .....
N° identification : .....
Ville : ..... CP : .....

Cachet du service (UG)

Téléphone

Médecin prescripteur : .....

Préleveur (nom, qualité) : .....
Date de prélèvement : .....
Heure de prélèvement : .....
Incidents survenus lors du prélèvement :
.....
.....

Critères d'annulation systématique

- Traitement par immunoglobulines polyvalentes ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Enfant < 20 mois ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Dosage IgG totales < 1,09 g/L ☐ **NON** ☐ **OUI**
- Déficit immunitaire secondaire *(immunosuppresseurs...)* ☐ **NON** ☐ **OUI**

Suspicions de déficit immunitaire primitif

Le dosage des sous-classes d'IgG est un examen de seconde intention dans l'exploration des déficits immunitaires, conformément aux recommandations en vigueur du CEREDIH (www.ceredih.fr).

- Dosage IgG déjà effectué ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (valeur : .....g/L)
- Dosage des sous-classes d'IgG déjà effectué ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (date : .....)
  Si oui, justification : .....
  .....

Maladie associée aux IgG4

- Suspicion de MAG4 ? ☐ **NON** ☐ **OUI** (atteinte(s) : .....)
- Suivi de MAG4 ? ☐ **NON** ☐ **OUI**

Autres : à justifier

.....
.....
.....
.....

Remarque : le sérum est conservé pour une durée d'environ 6 mois pour complément d'analyse si nécessaire.

Date d'application : XX / XX / 2019

Figure S15 Feuille de renseignements obligatoires pour le dosage des sous-classes d'IgG qui sera adressée aux services cliniques après validation. Format qualité conforme au Pôle de Biologie Pathologie du CHU de Bordeaux.

Discussion générale et perspectives

L'ensemble des travaux réalisés nous a permis de mieux comprendre le rôle des IgG4 dans la pratique quotidienne en biologie ou en clinique. Nous avons ainsi pu aborder l'approche clinique, avec notamment la MAG4 dont une partie du diagnostic repose sur les IgG4 (dosage sérique quantitatif et immunomarquage des biopsies) et les autres étiologies où le taux des IgG4 est augmenté. D'un point de vue biologique, nous avons vérifié le profil particulier de migration électrophorétique des IgG4, et évalué leur implication dans les discordances observées entre la somme des sous-classes d'IgG (IgGs) et le dosage des IgG totales (IgGt). Enfin, nous proposons des recommandations de bon usage du dosage des sous-classes d'IgG qui permettront de renforcer le dialogue clinico-biologique tout en améliorant les pratiques professionnelles.

Le diagnostic de la MAG4 peut être délicat et les critères diagnostiques de 2011 ne sont pas exhaustifs. Les critères de classification ACR/EULAR ont une approche différente, en introduisant des critères d'exclusion absents jusqu'alors. Cette classification propose un système de cotation par points basé sur des critères histologiques, des critères cliniques ou d'imagerie spécifiques d'organes et un critère biologique qu'est le taux d'IgG4 circulantes. L'application de ces nouveaux critères sur la cohorte de patients suivis au CHU de Bordeaux nous a montré qu'ils seraient plus à même d'inclure les patients au diagnostic. Une seule étude ayant testé ces critères de classification est publiée à ce jour. Elle était fondée sur une cohorte espagnole (Fernandez-Codina *et al.* 2019) et confirmait leurs performances bien que la démographie des cohortes fût différente. Comme nous l'avons démontré, cette étude souligne l'importance de la biopsie et que son étude adaptée à la recherche de MAG4 est majeure dans l'établissement du diagnostic. Le dosage quantitatif des IgG4 est un critère majeur (jusqu'à 10,8 points) pour le diagnostic (établi à partir de 19 points). La différence majeure avec les critères CDC réside dans une différence de seuil appliqué pour la cotation. Les critères CDC reposent sur le seuil de 1,35 g/L d'IgG4 (Hamano *et al.* 2001) alors que les critères CCAE appliquent la borne supérieure de normalité du laboratoire réalisant l'analyse. Cette différence de seuil est la raison principale d'inclusion des patients supplémentaires par les critères CCAE au CHU de Bordeaux. A partir des données de la cohorte bordelaise et l'établissement des courbes ROC, nous avons démontré que le seuil de 1,00 g/L était plus pertinent. Ce résultat est encore une fois, en accord avec les données de la littérature indiquant des taux d'IgG4 plus élevés dans les populations d'origine asiatique. Néanmoins, une validation de ce nouveau seuil à l'aide d'une plus grande cohorte et un groupe contrôle approprié permettrait de confirmer sa significativité. Enfin, la place du dosage des IgG4 dans le suivi de la maladie n'est pas clairement définie. L'étude des données de la cohorte

bordelaise tend à montrer qu'il aurait toute sa place, la fréquence de réalisation et son caractère prédictif des rechutes restant à préciser dans de futures études.

Au laboratoire, le moyen le plus simple de mettre en évidence des IgG4 est le dosage quantitatif. Nous avions observé que la comparaison du dosage des IgG totales et de la somme des sous-classes d'IgG n'est pas toujours concordante, retrouvant des situations où la différence est jusqu'à 20% supérieure malgré le respect rigoureux des préconisations fournisseurs. Nous avons montré la part de responsabilité des IgG4 dans cette discordance : une hyper IgG4 majoritairement retrouvée dans les MAG4 tend à augmenter cette discordance. Les raisons exactes ne sont pas encore connues. Nous supposons que les réactifs utilisés au laboratoire pourraient manquer de sensibilité et spécificité. D'autres expérimentations en collaboration avec les fournisseurs sont nécessaires pour éclaircir ce point.

Toutefois, notre étude des profils de migration électrophorétique a permis de confirmer qu'une augmentation significative et polyclonale des IgG4 donne un aspect de bloc β-γ à l'ELP et au mieux une restriction d'hétérogénéité en IF. Ce type de profil à l'ELP constitue ainsi un signe d'appel pour une augmentation des IgG4. Il conviendrait bien entendu d'exclure les autres étiologies pouvant donner un bloc β-γ, la cirrhose en premier lieu. Une étude comparative des profils observés lors de cirrhoses hépatiques et d'hyper-IgG4 pourrait permettre de mieux différencier les profils.

Les interférences liées aux anticorps monoclonaux thérapeutiques sur les techniques qualitatives d'évaluation des protéines pourraient augmenter devant l'engouement et l'efficacité de ces thérapeutiques. Ce n'est pas surprenant de voir qu'un anticorps monoclonal thérapeutique de type IgG4 apparaisse sur les IF. La vigilance doit être de rigueur pour les biologistes lorsque le traitement du patient comprend un anticorps monoclonal dont la concentration à l'équilibre est à même de générer une interférence.

La biologie médicale constitue aujourd'hui un enjeu médico-économique majeur et la notion de juste prescription des examens de biologie médicale est de plus en plus souvent évoquée afin d'optimiser la prise en charge du patient et de maîtriser les dépenses. La juste prescription fait en effet partie du rôle de prestation de conseil du biologiste médical. C'est dans ce contexte, associé à une augmentation croissante des prescriptions de dosages de sous-classes d'IgG que nous avons souhaité mettre en place des recommandations de bon usage du dosage des sous-classes d'IgG. Elles comprennent une feuille de renseignements cliniques obligatoires en vue de la réalisation de l'analyse et un logigramme de revue de prescription. La première à destination des cliniciens et le second pour les biologistes médicaux, ces deux documents faisant le lien entre la biologie et la clinique. Elles permettront également le juste diagnostic biologique.

Les IgG4 sont présentes quasiment partout où des IgG sont retrouvées mais leur part ou leur implication sont mal encore connues. Elles présentent des caractéristiques différentes des autres sous-classes d'IgG et sont impliquées dans de nombreuses pathologies (allergie, auto-immunité, MAG4, cancer, rejet de greffe…) dont le niveau de connaissance en est encore aux balbutiements. Quoi qu'il en soit, les IgG4 sont passionnantes pour le clinicien et le biologiste et nous n'avons pas fini d'entendre parler d'elles…

Références bibliographiques

Aalberse, R. C., S. O. Stapel, J. Schuurman, et T. Rispens. 2009. « Immunoglobulin G4: An Odd Antibody ». *Clinical & Experimental Allergy* 39(4):469‑77.

Aalberse, Rob C. et Janine Schuurman. 2002. « IgG4 breaking the rules ». *Immunology* 105(1):9‑19.

Abbas, Abul K., Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai, David L. Baker, et Alexandra Baker. 2018. *Cellular and Molecular Immunology*. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier.

Abe, Yuki, Jayesh Gor, Daniel G. Bracewell, Stephen J. Perkins, et Paul A. Dalby. 2010. « Masking of the Fc Region in Human IgG4 by Constrained X-Ray Scattering Modelling: Implications for Antibody Function and Therapy ». *The Biochemical Journal* 432(1):101‑11.

Aghamohammadi, Asghar, Mostafa Moin, Alireza Karimi, Mohsen Naraghi, Fariborz Zandieh, Anna Isaeian, Amir Tahaei, Mojtaba Talaei-Khoei, Ali Kouhi, Sina Abdollahzade, Nima Pouladi, Golnaz Heidari, Ali Akbar Amirzargar, Nima Rezaei, et Amir Arvin Sazgar. 2008. « Immunologic Evaluation of Patients with Recurrent Ear, Nose, and Throat Infections ». *American Journal of Otolaryngology* 29(6):385‑92.

Agresti, A. et D. Vercelli. 1999. « Analysis of Gamma4 Germline Transcription in Human B Cells ». *International Archives of Allergy and Immunology* 118(2‑4):279‑81.

Alexander, Mariam P., Christopher P. Larsen, Ian W. Gibson, Samih H. Nasr, Sanjeev Sethi, Mary E. Fidler, Yassaman Raissian, Naoki Takahashi, Suresh Chari, Thomas C. Smyrk, et Lynn D. Cornell. 2013. « Membranous Glomerulonephritis Is a Manifestation of IgG4-Related Disease ». *Kidney International* 83(3):455‑62.

Allen, Judith E. et Rick M. Maizels. 2011. « Diversity and Dialogue in Immunity to Helminths ». *Nature Reviews Immunology* 11(6):375‑88.

Amagai, Masayuki. 2003. « Desmoglein as a Target in Autoimmunity and Infection ». *Journal of the American Academy of Dermatology* 48(2):244‑52.

Andrew, Nicholas H., Nicole Sladden, Daniel J. Kearney, et Dinesh Selva. 2015. « An Analysis of IgG4-Related Disease (IgG4-RD) among Idiopathic Orbital Inflammations and Benign Lymphoid Hyperplasias Using Two Consensus-Based Diagnostic Criteria for IgG4-RD ». *The British Journal of Ophthalmology* 99(3):376‑81.

Angal, S., D. J. King, M. W. Bodmer, A. Turner, A. D. Lawson, G. Roberts, B. Pedley, et J. R. Adair. 1993. « A Single Amino Acid Substitution Abolishes the Heterogeneity of Chimeric Mouse/Human (IgG4) Antibody ». *Molecular Immunology* 30(1):105‑8.

Anon. s. d. « Approved antibodies - The Antibody Society ». Consulté 12 juillet 2019a (https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/).

Anon. s. d. « Monoclonal Antibodies Approved by the EMA and FDA for Therapeutic Use – ACTIP ». Consulté 12 juillet 2019b (http://www.actip.org/products/monoclonal-antibodies-approved-by-the-ema-and-fda-for-therapeutic-use/).

Anthony, Robert M., Laura I. Rutitzky, Joseph F. Urban, Miguel J. Stadecker, et William C. Gause. 2007. « Protective Immune Mechanisms in Helminth Infection ». *Nature Reviews. Immunology* 7(12):975‑87.

Antico, A., M. Pagani, P. P. Vescovi, P. Bonadonna, et G. Senna. 2011. « Food-Specific IgG4 Lack Diagnostic Value in Adult Patients with Chronic Urticaria and Other Suspected Allergy Skin Symptoms ». *International Archives of Allergy and Immunology* 155(1):52‑56.

Atmadja, A. K., R. Atkinson, E. Sartono, F. Partono, M. Yazdanbakhsh, et R. M. Maizels. 1995. « Differential Decline in Filaria-Specific IgG1, IgG4, and IgE Antibodies in Brugia Malayi-Infected Patients after Diethylcarbamazine Chemotherapy ». *The Journal of Infectious Diseases* 172(6):1567‑72.

Avery, Danielle T., Vanessa L. Bryant, Cindy S. Ma, Rene de Waal Malefyt, et Stuart G. Tangye. 2008. « IL-21-Induced Isotype Switching to IgG and IgA by Human Naive B Cells Is Differentially Regulated by IL-4 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 181(3):1767‑79.

Babu, Subash, Sajid Q. Bhat, N. Pavan Kumar, Angelo B. Lipira, Sanath Kumar, C. Karthik, V. Kumaraswami, et Thomas B. Nutman. 2009. « Filarial Lymphedema Is Characterized by Antigen-Specific Th1 and Th17 Proinflammatory Responses and a Lack of Regulatory T Cells ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3(4):e420.

Beck, Laurence H. 2017. « PLA2R and THSD7A: Disparate Paths to the Same Disease? » *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 28(9):2579‑89.

Beck, O. E. et P. E. Kaiser. 1981a. « Distribution of Human IgG Subclasses in Commercial Intravenous Immunoglobulin Preparations. A Rate Nephelometric Method ». *Vox Sanguinis* 41(2):79‑84.

Beck, O. E. et P. E. Kaiser. 1981b. « Nephelometry of Human IgG Subclass Concentration in Serum ». *Clinical Chemistry* 27(2):310‑13.

Bindon, C. I., G. Hale, M. Brüggemann, et H. Waldmann. 1988. « Human Monoclonal IgG Isotypes Differ in Complement Activating Function at the Level of C4 as Well as C1q ». *The Journal of Experimental Medicine* 168(1):127‑42.

Biogen Idec, Inc. 2006. « Monographie du TYSABRI ».

Bledsoe, Jacob R., Emanuel Della-Torre, Lucrezia Rovati, et Vikram Deshpande. 2018. « IgG4-Related Disease: Review of the Histopathologic Features, Differential Diagnosis, and Therapeutic Approach ». *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 126(6):459‑76.

Bonilla, Francisco A. 2008. « Pharmacokinetics of Immunoglobulin Administered via Intravenous or Subcutaneous Routes ». *Immunology and Allergy Clinics of North America* 28(4):803‑19.

Bonilla, Francisco A., David A. Khan, Zuhair K. Ballas, Javier Chinen, Michael M. Frank, Joyce T. Hsu, Michael Keller, Lisa J. Kobrynski, Hirsh D. Komarow, Bruce Mazer, Robert P. Nelson, Jordan S. Orange, John M. Routes, William T. Shearer, Ricardo U. Sorensen, James W. Verbsky, David I. Bernstein, Joann Blessing-Moore, David Lang, Richard A. Nicklas, John Oppenheimer, Jay M. Portnoy, Christopher R. Randolph, Diane Schuller, Sheldon L. Spector, Stephen Tilles, Dana Wallace, Francisco A. Bonilla, David A. Khan, David I. Bernstein, Joann Blessing-Moore, David Khan, David Lang, Richard A. Nicklas, John Oppenheimer, Jay M. Portnoy, Christopher R. Randolph, Diane Schuller, Sheldon L. Spector, Stephen Tilles, Dana Wallace, Francisco A. Bonilla, Zuhair K. Ballas, Javier Chinen, Michael M. Frank, Joyce T. Hsu, Michael Keller, Lisa J. Kobrynski, Hirsh D. Komarow, Bruce Mazer, Robert P. Nelson, Jordan S. Orange, John M. Routes, William T. Shearer, Ricardo U. Sorensen, et James W. Verbsky. 2015. « Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency ».

Journal of Allergy and Clinical Immunology 136(5):1186-1205.e78.

Boonpiyathad, T., N. Meyer, M. Moniuszko, M. Sokolowska, A. Eljaszewicz, O. F. Wirz, M. M. Tomasiak-Lozowska, A. Bodzenta-Lukaszyk, K. Ruxrungtham, et W. van de Veen. 2017. « High-Dose Bee Venom Exposure Induces Similar Tolerogenic B-Cell Responses in Allergic Patients and Healthy Beekeepers ». *Allergy* 72(3):407‑15.

Borderie, Didier. 2007. « Néphélémétrie-turbidimétrie ». *//www.em-premium.com/data/traites/bio/emb-47670/*.

Bossuyt, Xavier, Godelieve Mariën, Isabelle Meyts, Marijke Proesmans, et Kris De Boeck. 2005. « Determination of IgG Subclasses: A Need for Standardization ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 115(4):872‑74.

Bouvier, Anne-Marie, Laurent Remontet, Eric Jougla, Guy Launoy, Pascale Grosclaude, Antoine Buémi, Brigitte Tretarre, Michel Velten, Vincent Dancourt, François Menegoz, Anne-Valérie Guizard, Josette Macé Lesec'h, Jung Peng, Paolo Bercelli, Patrick Arveux, Jacques Estève, et Jean Faivre. 2004. « Incidence of Gastrointestinal Cancers in France ». *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* 28(10 Pt 1):877‑81.

Bożek, Andrzej, Krzysztof Kołodziejczyk, Renata Kozłowska, et Giorgio Walter Canonica. 2017. « Evidence of the Efficacy and Safety of House Dust Mite Subcutaneous Immunotherapy in Elderly Allergic Rhinitis Patients: A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Trial ». *Clinical and Translational Allergy* 7:43.

Brekke, O. H., T. E. Michaelsen, A. Aase, R. H. Sandin, et I. Sandlie. 1994. « Human IgG Isotype-Specific Amino Acid Residues Affecting Complement-Mediated Cell Lysis and Phagocytosis ». *European Journal of Immunology* 24(10):2542‑47.

Brito-Zerón, Pilar, Manuel Ramos-Casals, Xavier Bosch, et John H. Stone. 2014. « The Clinical Spectrum of IgG4-Related Disease ». *Autoimmunity Reviews* 13(12):1203‑10.

Bruhns, Pierre. 2012. « Properties of Mouse and Human IgG Receptors and Their Contribution to Disease Models ». *Blood* 119(24):5640‑49.

Bruhns, Pierre, Bruno Iannascoli, Patrick England, David A. Mancardi, Nadine Fernandez, Sylvie Jorieux, et Marc Daëron. 2009. « Specificity and Affinity of Human Fcgamma Receptors and Their Polymorphic Variants for Human IgG Subclasses ». *Blood* 113(16):3716‑25.

Brusco, A., S. Saviozzi, F. Cinque, M. DeMarchi, C. Boccazzi, G. de Lange, A. M. van Leeuwen, et A. O. Carbonara. 1998. « Molecular Characterization of Immunoglobulin G4 Gene Isoallotypes ». *European Journal of Immunogenetics: Official Journal of the British Society for Histocompatibility and Immunogenetics* 25(5):349‑55.

Burkly, Linda C., Aniela Jakubowski, Barbara M. Newman, Margaret D. Rosa, Gloria Chi-Rosso, et Roy R. Lobb. 1991. « Signaling by Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) through VLA-4 Promotes CD3-Dependent T Cell Proliferation ». *European Journal of Immunology* 21(11):2871‑75.

Camporeale, Angelo, David Kudrow, Ryan Sides, Shufang Wang, Annelies Van Dycke, Katherine J. Selzler, et Virginia L. Stauffer. 2018. « A Phase 3, Long-Term, Open-Label Safety Study of Galcanezumab in Patients with Migraine ». *BMC Neurology* 18(1):188.

Cao, Zhe, Rui Tian, Taiping Zhang, et Yupei Zhao. 2015. « Localized Autoimmune Pancreatitis: Report of a Case Clinically Mimicking Pancreatic Cancer and a Literature Review ». *Medicine* 94(42):e1656.

Carruthers, Mollie N., Arezou Khosroshahi, Tamara Augustin, Vikram Deshpande, et John H. Stone. 2015. « The Diagnostic Utility of Serum IgG4 Concentrations in IgG4-Related Disease ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 74(1):14‑18.

Carruthers, Mollie N., Eli M. Miloslavsky, et John H. Stone. 2013. « Reply: To PMID 22736240 ». *Arthritis and Rheumatism* 65(8):2217‑18.

Carruthers, Mollie N., John H. Stone, Vikram Deshpande, et Arezou Khosroshahi. 2012. « Development of an IgG4-RD Responder Index ». *International Journal of Rheumatology* 2012:259408.

Cartaud, Jean et Annie Cartaud. 2009. « LRP4 : le co-récepteur de l'agrine enfin identifié ? » *médecine/sciences* 25(3):215‑16.

Chabane, H., V. Doyen, F. Bienvenu, K. Adel-Patient, J. Vitte, D. Mariotte, et J. Bienvenu. 2018. « Les dosages d'IgG anti-aliments : méthodes et pertinence clinique des résultats. Position du groupe de travail de biologie de la Société française d'allergologie ». *Revue Française d'Allergologie* 58(4):334‑57.

Charrow, Alexandra, Sotonye Imadojemu, Sasha Stephen, Temitayo Ogunleye, Junko Takeshita, et Jules B. Lipoff. 2016. « Cutaneous Manifestations of IgG4-Related Disease (RD): A Systematic Review ». *Journal of the American Academy of Dermatology* 75(1):197‑202.

Chen, Gang, Wah Cheuk, et John Kwok-Cheung Chan. 2010. « [IgG4-related sclerosing disease: a critical appraisal of an evolving clinicopathologic entity] ». *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi = Chinese Journal of Pathology* 39(12):851‑68.

Chen, Yu, Wei Lin, Hongxian Yang, Mu Wang, Panpan Zhang, Ruie Feng, Hua Chen, Linyi Peng, Xuan Zhang, Yan Zhao, Xiaofeng Zeng, Fengchun Zhang, Wen Zhang, et Peter E. Lipsky. 2018. « Aberrant Expansion and Function of Follicular Helper T Cell Subsets in IgG4-Related Disease ». *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 70(11):1853‑65.

Chennamsetty, Naresh, Bernhard Helk, Vladimir Voynov, Veysel Kayser, et Bernhardt L. Trout. 2009. « Aggregation-Prone Motifs in Human Immunoglobulin G ». *Journal of Molecular Biology* 391(2):404‑13.

Cheuk, Wah, Alexander C. L. Chan, Wai-Lung Lam, Sheung-Ming Chow, Peter Crowley, Richard Lloydd, Ian Campbell, Murray Thorburn, et John K. C. Chan. 2009. « IgG4-Related Sclerosing Mastitis: Description of a New Member of the IgG4-Related Sclerosing Diseases ». *The American Journal of Surgical Pathology* 33(7):1058‑64.

Cheuk, Wah, Hunter K. L. Yuen, Stephenie Y. Y. Chu, Edmond K. W. Chiu, L. K. Lam, et John K. C. Chan. 2008. « Lymphadenopathy of IgG4-Related Sclerosing Disease ». *The American Journal of Surgical Pathology* 32(5):671‑81.

Chibbar, Rajni, Glenda R. Wright, Pouneh Dokouhaki, Sandi Dumanski, Bhanu Prasad, Michael Mengel, Lynn D. Cornell, et Ahmed Shoker. 2018. « Recurrent IgG4-Related Tubulointerstitial Nephritis Concurrent with Chronic Active Antibody Mediated Rejection: A Case Report ». *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 18(7):1799‑1803.

Connell, Nathan T. 2019. « Ravulizumab: A Complementary Option for PNH ». *Blood* 133(6):503‑4.

Coomes, S. M., Y. Kannan, V. S. Pelly, L. J. Entwistle, R. Guidi, J. Perez-Lloret, N. Nikolov, W. Müller, et M. S. Wilson. 2017. « CD4+ Th2 Cells Are Directly Regulated by IL-10 during Allergic Airway Inflammation ». *Mucosal Immunology* 10(1):150‑61.

Corcoran, John P., Emma L. Culver, Rebekah M. Anstey, Ambika Talwar, Charis D. Manganis, Tamsin N. Cargill, Robert J. Hallifax, Ioannis Psallidas, Najib M. Rahman, et Eleanor Barnes. 2017. « Thoracic Involvement in IgG4-Related Disease in a UK-Based Patient Cohort ». *Respiratory Medicine* 132:117‑21.

Cornell, Lynn D. 2010. « IgG4-Related Tubulointerstitial Nephritis ». *Kidney International* 78(10):951‑53.

Corren, Jonathan. 2013. « Role of Interleukin-13 in Asthma ». *Current Allergy and Asthma Reports* 13(5):415‑20.

Creative Biolabs. 2018a. « Gemtuzumab Ozogamicin Overview - Creative Biolabs ». Consulté 16 août 2019 (https://www.creativebiolabs.net/gemtuzumab-ozogamicin-overview.htm).

Creative Biolabs. 2018b. « Inotuzumab Ozogamicin Overview - Creative Biolabs ». Consulté 16 août 2019 (https://www.creativebiolabs.net/inotuzumab-ozogamicin-overview.htm).

Creative Biolabs. 2018c. « Ixekizumab Overview - Creative Biolabs ». Consulté 14 août 2019 (https://www.creativebiolabs.net/ixekizumab-overview.htm).

Crescioli, Silvia, Isabel Correa, Panagiotis Karagiannis, Anna M. Davies, Brian J. Sutton, Frank O. Nestle, et Sophia N. Karagiannis. 2016. « IgG4 Characteristics and Functions in Cancer Immunity ». *Current Allergy and Asthma Reports* 16(1):7.

Culton, Donna A., Ye Qian, Ning Li, David Rubenstein, Valeria Aoki, Gunter Hans Filhio, Evandro A. Rivitti, et Luis A. Diaz. 2008. « Advances in Pemphigus and Its Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem) Phenotype: A Paradigm of Human Autoimmunity ». *Journal of Autoimmunity* 31(4):311‑24.

Danlos, François-Xavier, Giovanni Maria Rossi, Daniel Blockmans, Giacomo Emmi, Andreas Kronbichler, Stéphane Durupt, Claire Maynard, Luminita Luca, Cyril Garrouste, Bertrand Lioger, Rachel Mourot-Cottet, Robin Dhote, Jean-Benoit Arlet, Thomas Hanslik, Philippe Rouvier, Mikael Ebbo, Xavier Puéchal, Dominique Nochy, Agnès Carlotti, Luc Mouthon, Loïc Guillevin, Augusto Vaglio, Benjamin Terrier, et French Vasculitis Study Group. 2017. « Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitides and IgG4-Related Disease: A New Overlap Syndrome ». *Autoimmunity Reviews* 16(10):1036‑43.

Daveau, M., J. Pavie-Fischer, L. Rivat, C. Rivat, C. Ropartz, H. H. Peter, J. P. Cesarini, et F. M. Kourilsky. 1977. « IgG4 Subclass in Malignant Melanoma ». *Journal of the National Cancer Institute* 58(2):189‑92.

Davies, Anna M., Theo Rispens, Pleuni Ooijevaar-de Heer, Hannah J. Gould, Roy Jefferis, Rob C. Aalberse, et Brian J. Sutton. 2014. « Structural Determinants of Unique Properties of Human IgG4-Fc ». *Journal of Molecular Biology* 426(3):630‑44.

Deheragoda, Maesha G., Nicholas I. Church, Manuel Rodriguez-Justo, Philippa Munson, Neomal Sandanayake, Edward W. Seward, Keith Miller, Marco Novelli, Adrian R. W. Hatfield, Stephen P. Pereira, et George J. M. Webster. 2007. « The Use of Immunoglobulin G4 Immunostaining in Diagnosing Pancreatic and Extrapancreatic Involvement in Autoimmune Pancreatitis ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 5(10):1229‑34.

Della-Torre, Emanuel, Emanuele Bozzalla-Cassione, Clara Sciorati, Eliana Ruggiero, Marco Lanzillotta, Silvia Bonfiglio, Hamid Mattoo, Cory A. Perugino, Enrica Bozzolo, Lucrezia Rovati, Paolo Giorgio Arcidiacono, Gianpaolo Balzano, Dejan Lazarevic, Chiara Bonini, Massimo Falconi, John H. Stone, Lorenzo Dagna, Shiv Pillai, et Angelo A. Manfredi. 2018. « A CD8α- Subset of CD4+SLAMF7+ Cytotoxic T Cells Is Expanded in Patients With IgG4-Related Disease and Decreases Following Glucocorticoid Treatment ». *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 70(7):1133‑43.

Della-Torre, Emanuel, Laura Galli, Diego Franciotta, Enrica Paola Bozzolo, Chiara Briani, Roberto Furlan, Luisa Roveri, Maria Sessa, Gabriella Passerini, et Maria Grazia Sabbadini. 2014. « Diagnostic value of IgG4 Indices in IgG4-Related Hypertrophic Pachymeningitis ». *Journal of Neuroimmunology* 266(1):82‑86.

Della-Torre, Emanuel, Marco Lanzillotta, Corrado Campochiaro, Emanuele Bozzalla, Enrica Bozzolo, Alessandro Bandiera, Elena Bazzigaluppi, Carla Canevari, Giulio Modorati, John H. Stone, Angelo Manfredi, et Claudio Doglioni. 2016. « Antineutrophil Cytoplasmic Antibody Positivity in IgG4-Related Disease: A Case Report and Review of the Literature ». *Medicine* 95(34):e4633.

Della-Torre, Emanuel, Hamid Mattoo, Vinay S. Mahajan, Vikram Deshpande, Donald Krause, Philip Song, Shiv Pillai, et John H. Stone. 2014. « IgG4-Related Midline Destructive Lesion ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 73(7):1434‑36.

Deshpande, Vikram, Yoh Zen, John KC Chan, Eunhee E. Yi, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino, Günter Klöppel, J. Godfrey Heathcote, Arezou Khosroshahi, Judith A. Ferry, Rob C. Aalberse, Donald B. Bloch, William R. Brugge, Adrian C. Bateman, Mollie N. Carruthers, Suresh T. Chari, Wah Cheuk, Lynn D. Cornell, Carlos Fernandez-Del Castillo, David G. Forcione, Daniel L. Hamilos, Terumi Kamisawa, Satomi Kasashima, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano, Gregory Y. Lauwers, Yasufumi Masaki, Yasuni Nakanuma, Kenji Notohara, Kazuichi Okazaki, Ji Kon Ryu, Takako Saeki, Dushyant V. Sahani, Thomas C. Smyrk, James R. Stone, Masayuki Takahira, George J. Webster, Motohisa Yamamoto, Giuseppe Zamboni, Hisanori Umehara, et John H. Stone. 2012. « Consensus Statement on the Pathology of IgG4-Related Disease ». *Modern Pathology* 25(9):1181‑92.

Despommier, Dickson. 2002. « Worms and Human Disease. By Ralph Muller, Pp. 320. CABI Publishing, UK, 2001. ISBN 0 85199 516 0. £35.00 (Paperback). » *Parasitology* 125(5):456‑456.

Di Zenzo, Giovanni, Giulia Di Lullo, Davide Corti, Valentina Calabresi, Anna Sinistro, Fabrizia Vanzetta, Biagio Didona, Giuseppe Cianchini, Michael Hertl, Rudiger Eming, Masayuki Amagai, Bungo Ohyama, Takashi Hashimoto, Jerry Sloostra, Federica Sallusto, Giovanna Zambruno, et Antonio Lanzavecchia. 2012. « Pemphigus autoantibodies generated through somatic mutations target the desmoglein-3 cis-interface ». *The Journal of Clinical Investigation* 122(10):3781‑90.

Djurup, R. et H. J. Malling. 1987. « High IgG4 Antibody Level Is Associated with Failure of Immunotherapy with Inhalant Allergens ». *Clinical <html_ent Glyph="@amp;" Ascii="&"/> Experimental Allergy* 17(5):459‑68.

van de Donk, Niels W. C. J., Henny G. Otten, Omar El Haddad, Amy Axel, A. Kate Sasser, Sandra Croockewit, et Joannes F. M. Jacobs. 2016. « Interference of Daratumumab in Monitoring Multiple Myeloma Patients Using Serum Immunofixation Electrophoresis Can Be Abrogated Using the Daratumumab IFE Reflex Assay (DIRA) ». *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 54(6):1105‑9.

Doppler, Kathrin, Luise Appeltshauser, Carmen Villmann, Corinna Martin, Elior Peles, Heidrun H. Krämer, Axel Haarmann, Mathias Buttmann, et Claudia Sommer. 2016. « Auto-Antibodies to Contactin-Associated

Protein 1 (Caspr) in Two Patients with Painful Inflammatory Neuropathy ». *Brain* 139(10):2617‑30.

Doppler, Kathrin, Luise Appeltshauser, Kai Wilhelmi, Carmen Villmann, Sulayman D. Dib-Hajj, Stephen G. Waxman, Mathias Mäurer, Andreas Weishaupt, et Claudia Sommer. 2015. « Destruction of Paranodal Architecture in Inflammatory Neuropathy with Anti-Contactin-1 Autoantibodies ». *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 86(7):720‑28.

Douketis, James. 2019. « Lymphadénopathie - Troubles cardiovasculaires ». *Édition professionnelle du Manuel MSD*. Consulté 29 juillet 2019 (https://www.msdmanuals.com/fr/professional/troubles-cardiovasculaires/troubles-lymphatiques/lymphad%C3%A9nopathie).

Duan, Linna et Eric Mukherjee. 2016. « Janeway's Immunobiology, Ninth Edition ». *The Yale Journal of Biology and Medicine* 89(3):424‑25.

Ebbo, Mikael, Aurélie Grados, Eric Guedj, Delphine Gobert, Cécile Colavolpe, Mohamad Zaidan, Agathe Masseau, Fanny Bernard, Jean-Marie Berthelot, Nathalie Morel, François Lifermann, Sylvain Palat, Julien Haroche, Xavier Mariette, Bertrand Godeau, Emmanuelle Bernit, Nathalie Costedoat-Chalumeau, Thomas Papo, Mohamed Hamidou, Jean-Robert Harlé, et Nicolas Schleinitz. 2014. « Usefulness of 2-[18F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose-Positron Emission Tomography/Computed Tomography for Staging and Evaluation of Treatment Response in IgG4-Related Disease: A Retrospective Multicenter Study ». *Arthritis Care & Research* 66(1):86‑96.

Ebbo, Mikael, Aurélie Grados, Maxime Samson, Matthieu Groh, Anderson Loundou, Aude Rigolet, Benjamin Terrier, Constance Guillaud, Clarisse Carra-Dallière, Frédéric Renou, Agnieszka Pozdzik, Pierre Labauge, Sylvain Palat, Jean-Marie Berthelot, Jean-Loup Pennaforte, Alain Wynckel, Céline Lebas, Noémie Le Gouellec, Thomas Quémeneur, Karine Dahan, Franck Carbonnel, Gaëlle Leroux, Antoinette Perlat, Alexis Mathian, Patrice Cacoub, Eric Hachulla, Nathalie Costedoat-Chalumeau, Jean-Robert Harlé, et Nicolas Schleinitz. 2017. « Long-Term Efficacy and Safety of Rituximab in IgG4-Related Disease: Data from a French Nationwide Study of Thirty-Three Patients ». *PloS One* 12(9):e0183844.

Ebbo, Mikael, Matthieu Patient, Aurelie Grados, Matthieu Groh, Julien Desblaches, Eric Hachulla, David Saadoun, Sylvain Audia, Aude Rigolet, Benjamin Terrier, Antoinette Perlat, Constance Guillaud, Frederic Renou, Emmanuelle Bernit, Nathalie Costedoat-Chalumeau, Jean-Robert Harlé, et Nicolas Schleinitz. 2017. « Ophthalmic Manifestations in IgG4-Related Disease: Clinical Presentation and Response to Treatment in a French Case-Series ». *Medicine* 96(10):e6205.

Echaniz-Laguna, A. 2012. « Myasthénie avec anticorps anti-MuSK ». *//www.em-premium.com/data/revues/18787762/v3i1/S1878776211001300/*.

Edvinsson, Lars, Kristian Agmund Haanes, Karin Warfvinge, et Diana N. Krause. 2018. « CGRP as the Target of New Migraine Therapies — Successful Translation from Bench to Clinic ». *Nature Reviews Neurology* 14(6):338‑50.

Eftekhari, Sajedeh et Lars Edvinsson. 2011. « Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) and Its Receptor Components in Human and Rat Spinal Trigeminal Nucleus and Spinal Cord at C1-Level ». *BMC Neuroscience* 12(1):112.

Egner, W., K. Swallow, R. J. Lock, et D. Patel. 2016. « Falsely low immunoglobulin (Ig)G4 in routine analysis: how not to miss IgG4 disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 186(1):57‑63.

Egu, D. T., E. Walter, V. Spindler, et J. Waschke. 2017. « Inhibition of P38MAPK Signalling Prevents Epidermal Blistering and Alterations of Desmosome Structure Induced by Pemphigus Autoantibodies in Human Epidermis ». *British Journal of Dermatology* 177(6):1612‑18.

El Hussan, A. Purohit, S. Spitzauer, V. Niederberger, R. Valenta, et G. Pauli. 2008. « Induction d'IgG spécifiques au cours d'une désensibilisation effectuée avec des allergènes recombinants ». *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* 48(1):55‑57.

Faivre-Sarrailh, Catherine et Jérôme J. Devaux. 2013. « Neuro-Glial Interactions at the Nodes of Ranvier: Implication in Health and Diseases ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7.

Falhammar, Henrik, Carl Christofer Juhlin, Caroline Barner, Sergiu-Bogdan Catrina, Christos Karefylakis, et Jan Calissendorff. 2018. « Riedel's Thyroiditis: Clinical Presentation, Treatment and Outcomes ». *Endocrine* 60(1):185‑92.

Farkas, Andreas M., Ulrike Baranyi, Georg A. Böhmig, Lukas Unger, Stefan Hopf, Markus Wahrmann, Heinz Regele, Benedikt Mahr, Christoph Schwarz, Karin Hock, Nina Pilat, Ivan Kristo, Jasmin Mraz, Christian Lupinek, Josef Thalhamer, Gregor Bond, Lorenz Kuessel, Elizabeth Wlodek, Jack Martin, Menna Clatworthy, Gavin Pettigrew, Rudolf Valenta, et Thomas Wekerle. 2019. « Allograft Rejection Is Associated with Development of Functional IgE Specific for Donor MHC Antigens ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 143(1):335-345.e12.

Farne, Hugo A., Amanda Wilson, Colin Powell, Lynne Bax, et Stephen J. Milan. 2017. « Anti-IL5 Therapies for Asthma » édité par Cochrane Airways Group. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

Fatemi, Gita et Meika A. Fang. 2013. « IgG4-Related Pharyngitis-an Addition to the Nomenclature of IgG4-Related Disease: Comment on the Article by Stone et Al ». *Arthritis and Rheumatism* 65(8):2217.

Ferrari, S., G. C. Mudde, M. Rieger, A. Veyradier, J. a. Kremer Hovinga, et F. Scheiflinger. 2009. « IgG Subclass Distribution of Anti-ADAMTS13 Antibodies in Patients with Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura ». *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 7(10):1703‑10.

Ferrari, Silvia, Friedrich Scheiflinger, Manfred Rieger, Geert Mudde, Martine Wolf, Paul Coppo, Jean-Pierre Girma, Elie Azoulay, Christian Brun-Buisson, Fadi Fakhouri, Jean-Paul Mira, Eric Oksenhendler, Pascale Poullin, Eric Rondeau, Nicolas Schleinitz, Benoit Schlemmer, Jean-Louis Teboul, Philippe Vanhille, Jean-Paul Vernant, Dominique Meyer, et Agnès Veyradier. 2007. « Prognostic Value of Anti-ADAMTS13 Antibody Features (Ig Isotype, Titer, and Inhibitory Effect) in a Cohort of 35 Adult French Patients Undergoing a First Episode of Thrombotic Microangiopathy with Undetectable ADAMTS13 Activity ». *Blood* 109(7):2815‑22.

Finn, William G., Ronald Gulbranson, Sondra Fisher, Lynn Rae Sample, Renee Shalhoub, Deborah Hedstrom, et David F. Keren. 2016. « Detection of Polyclonal Increases in Immunoglobulin G4 Subclass by Distinct Patterns on Capillary Serum Protein Electrophoresis: Diagnostic Pitfalls and Clinical Observations in a Study of 303 Cases ». *American Journal of Clinical Pathology* 146(3):303‑11.

Flanagan, J. G. et T. H. Rabbitts. 1982. « Arrangement of Human Immunoglobulin Heavy Chain Constant Region Genes Implies Evolutionary Duplication of a Segment

Containing Gamma, Epsilon and Alpha Genes ». *Nature* 300(5894):709‑13.

Flicker, Sabine et Rudolf Valenta. 2003. « Renaissance of the Blocking Antibody Concept in Type I Allergy ». *International Archives of Allergy and Immunology* 132(1):13‑24.

Fouquet, G., S. Guidez, V. Richez, T. Systchenko, C. Gruchet, N. Moya, D. Desmier, A. Machet, A. Levy, A. Bobin, F. Sabirou, et X. Leleu. 2017. « Myélome multiple ». *//www.em-premium.com/data/traites/sa/13-50914/*.

Fragoulis, G. E., E. Zampeli, et H. M. Moutsopoulos. 2017. « IgG4-Related Sialadenitis and Sjögren's Syndrome ». *Oral Diseases* 23(2):152‑56.

Freiberger, S. N., M. Zehnder, G. Gafvelin, H. Grönlund, T. M. Kündig, et P. Johansen. 2016. « IgG4 but No IgG1 Antibody Production after Intralymphatic Immunotherapy with Recombinant MAT-Feld1 in Human ». *Allergy* 71(9):1366‑70.

Funakoshi, T., L. Lunardon, C. T. Ellebrecht, A. R. Nagler, C. E. O'Leary, et A. S. Payne. 2012. « Enrichment of Total Serum IgG4 in Patients with Pemphigus ». *British Journal of Dermatology* 167(6):1245‑53.

Futei, Yuko, Masayuki Amagai, Ken Ishii, Keiko Kuroda-Kinoshita, Kazuhiko Ohya, et Takeji Nishikawa. 2001. « Predominant IgG4 Subclass in Autoantibodies of Pemphigus Vulgaris and Foliaceus ». *Journal of Dermatological Science* 26(1):55‑61.

García-Robaina, J. C., F. de la Torre-Morín, C. Vazquez-Moncholi, J. Fierro, et C. Bonnet-Moreno. 1997. « The Natural History of Apis-Specific IgG and IgG4 in Beekeepers ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 27(4):418‑23.

Geyer, Julia T. et Vikram Deshpande. 2011. « IgG4-Associated Sialadenitis ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):95‑101.

Geyer, Julia T., Ruben Niesvizky, David S. Jayabalan, Susan Mathew, Shivakumar Subramaniyam, Alexander I. Geyer, Attilio Orazi, et Scott A. Ely. 2014. « IgG4 Plasma Cell Myeloma: New Insights into the Pathogenesis of IgG4-Related Disease ». *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 27(3):375‑81.

Ghazale, Amaar, Suresh T. Chari, Thomas C. Smyrk, Michael J. Levy, Mark D. Topazian, Naoki Takahashi, Jonathan E. Clain, Randall K. Pearson, Mario Pelaez-Luna, Bret T. Petersen, Santhi Swaroop Vege, et Michael B. Farnell. 2007. « Value of Serum IgG4 in the Diagnosis of Autoimmune Pancreatitis and in Distinguishing It from Pancreatic Cancer ». *The American Journal of Gastroenterology* 102(8):1646‑53.

Ghazale, Amaar, Suresh T. Chari, Lizhi Zhang, Thomas C. Smyrk, Naoki Takahashi, Michael J. Levy, Mark D. Topazian, Jonathan E. Clain, Randall K. Pearson, Bret T. Petersen, Santhi Swaroop Vege, Keith Lindor, et Michael B. Farnell. 2008. « Immunoglobulin G4-Associated Cholangitis: Clinical Profile and Response to Therapy ». *Gastroenterology* 134(3):706‑15.

Gieseck, Richard L., Mark S. Wilson, et Thomas A. Wynn. 2018. « Type 2 Immunity in Tissue Repair and Fibrosis ». *Nature Reviews. Immunology* 18(1):62‑76.

Gómez, Enrique, Cristobalina Mayorga, Francisca Gómez, Ana Belen Blázquez, Araceli Díaz-Perales, Miguel Blanca, et María José Torres. 2013. « Food Allergy: Management, Diagnosis and Treatment Strategies ». *Immunotherapy* 5(7):755‑68.

Goodchild, George, Stephen P. Pereira, et George Webster. 2018. « Immunoglobulin G4-Related Sclerosing Cholangitis ». *The Korean Journal of Internal Medicine* 33(5):841‑50.

Groh, N., C. S. von Loetzen, B. Subbarayal, C. Möbs, L. Vogel, A. Hoffmann, K. Fötisch, A. Koutsouridou, S. Randow, E. Völker, A. Seutter von Loetzen, P. Rösch, S. Vieths, W. Pfützner, B. Bohle, et D. Schiller. 2017. « IgE and Allergen-Specific Immunotherapy-Induced IgG4 Recognize Similar Epitopes of Bet v 1, the Major Allergen of Birch Pollen ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 47(5):693‑703.

Hamano, Hideaki, Norikazu Arakura, Takashi Muraki, Yayoi Ozaki, Kendo Kiyosawa, et Shigeyuki Kawa. 2006. « Prevalence and Distribution of Extrapancreatic Lesions Complicating Autoimmune Pancreatitis ». *Journal of Gastroenterology* 41(12):1197‑1205.

Hamano, Hideaki, Kawa Shigeyuki, Horiuchi Akira, Unno Hiroshi, Furuya Naoyuki, Akamatsu Taiji, Fukushima Mana, Nikaido Toshio, Nakayama Kohzo, Usuda Nobuteru, et Kiyosawa Kendo. 2001. « High Serum IgG4 Concentrations in Patients with Sclerosing Pancreatitis ». *The New England Journal of Medicine* 7.

Hao, Mingju, Min Liu, Gaowei Fan, Xin Yang, et Jinming Li. 2016. « Diagnostic Value of Serum IgG4 for IgG4-Related Disease: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis ». *Medicine* 95(21):e3785.

Harada, Kenichi, Shinji Shimoda, Yasushi Kimura, Yasunori Sato, Hiroko Ikeda, Saya Igarashi, Xiang-Shan Ren, Hirohide Sato, et Yasuni Nakanuma. 2012. « Significance of Immunoglobulin G4 (IgG4)-Positive Cells in Extrahepatic Cholangiocarcinoma: Molecular Mechanism of IgG4 Reaction in Cancer Tissue ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 56(1):157‑64.

Haraguchi, Ai, Ai Era, Junichi Yasui, Takao Ando, Ikuko Ueki, Ichiro Horie, Misa Imaizumi, Toshiro Usa, Kuniko Abe, Tomoki Origuchi, et Katsumi Eguchi. 2010. « Putative IgG4-Related Pituitary Disease with Hypopituitarism and/or Diabetes Insipidus Accompanied with Elevated Serum Levels of IgG4 ». *Endocrine Journal* 57(8):719‑25.

Hart, Phil A., Michael J. Levy, Thomas C. Smyrk, Naoki Takahashi, Barham K. Abu Dayyeh, Jonathan E. Clain, Ferga C. Gleeson, Randall K. Pearson, Bret T. Petersen, Mark D. Topazian, Santhi S. Vege, Lizhi Zhang, et Suresh T. Chari. 2016. « Clinical Profiles and Outcomes in Idiopathic Duct-Centric Chronic Pancreatitis (Type 2 Autoimmune Pancreatitis): The Mayo Clinic Experience ». *Gut* 65(10):1702‑9.

HAS. 2010. *Guide ALD - Myélome Multiple*.

Hatta, Y., N. Tsuchiya, M. Matsushita, M. Shiota, K. Hagiwara, et K. Tokunaga. 1999. « Identification of the Gene Variations in Human CD22 ». *Immunogenetics* 49(4):280‑86.

Herbener, Peter, Kurt Schönfeld, Martin König, Matthias Germer, Jude M. Przyborski, Katrin Bernöster, et Jörg Schüttrumpf. 2018. « Functional Relevance of in Vivo Half Antibody Exchange of an IgG4 Therapeutic Antibody-Drug Conjugate » édité par H. Shiku. *PLOS ONE* 13(4):e0195823.

Herlitz, Leal C., Andrew S. Bomback, Glen S. Markowitz, M. Barry Stokes, R. Neal Smith, Robert B. Colvin, Gerald B. Appel, et Vivette D. D'Agati. 2012. « Pathology after Eculizumab in Dense Deposit Disease and C3 GN ». *Journal of the American Society of Nephrology* 23(7):1229‑37.

Hibma, Jennifer et Beverly Knight. 2019. « Population Pharmacokinetic Modeling of Gemtuzumab Ozogamicin in Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia ». *Clinical Pharmacokinetics* 58(3):335‑47.

Homburger, Henry A. et Ravinder Jit Singh. 2008. « Assessment of Proteins of the Immune System ». P. 1419‑34 in *Clinical Immunology*. Elsevier.

Hubers, Lowiek M., Harmjan Vos, Alex R. Schuurman, Robin Erken, Ronald P. Oude Elferink, Boudewijn Burgering, Stan F. J. van de Graaf, et Ulrich Beuers. 2018. « Annexin A11 Is Targeted by IgG4 and IgG1 Autoantibodies in IgG4-Related Disease ». *Gut* 67(4):728‑35.

Huijbers, M. G., W. Zhang, R. Klooster, E. H. Niks, M. B. Friese, K. R. Straasheijm, P. E. Thijssen, H. Vrolijk, J. J. Plomp, P. Vogels, M. Losen, S. M. Van der Maarel, S. J. Burden, et J. J. Verschuuren. 2013. « MuSK IgG4 Autoantibodies Cause Myasthenia Gravis by Inhibiting Binding between MuSK and Lrp4 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(51):20783‑88.

Institut national du cancer. 2018. « INCA - Les cancers en France, édition 2017, collection Les Données ». Consulté 25 juillet 2019 (https://www.e-cancer.fr/ressources/cancers_en_france/).

Ishii, Ken, Reiko Harada, Itsuro Matsuo, Yuji Shirakata, Koji Hashimoto, et Masayuki Amagai. 2005. « In Vitro Keratinocyte Dissociation Assay for Evaluation of the Pathogenicity of Anti-Desmoglein 3 IgG Autoantibodies in Pemphigus Vulgaris ». *Journal of Investigative Dermatology* 124(5):939‑46.

Ishikawa, Tomoyoshi, Takahiko Ito, Ryosuke Endo, Keiko Nakagawa, Eiji Sawa, et Kaori Wakamatsu. 2010. « Influence of PH on Heat-Induced Aggregation and Degradation of Therapeutic Monoclonal Antibodies ». *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 33(8):1413‑17.

Ito, Fumie, Ryuta Kamekura, Motohisa Yamamoto, Kenichi Takano, Hiromi Takaki, Hayato Yabe, Ippei Ikegami, Katsunori Shigehara, Tetsuo Himi, Hiroki Takahashi, et Shingo Ichimiya. 2019. « IL-10+ T Follicular Regulatory Cells Are Associated with the Pathogenesis of IgG4-Related Disease ». *Immunology Letters* 207:56‑63.

Iwai, Y., M. Ishida, Y. Tanaka, T. Okazaki, T. Honjo, et N. Minato. 2002. « Involvement of PD-L1 on Tumor Cells in the Escape from Host Immune System and Tumor Immunotherapy by PD-L1 Blockade ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(19):12293‑97.

Jabara, H. H., R. Loh, N. Ramesh, D. Vercelli, et R. S. Geha. 1993. « Sequential Switching from Mu to Epsilon via Gamma 4 in Human B Cells Stimulated with IL-4 and Hydrocortisone ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 151(9):4528‑33.

Jacobs, Joannes F. M., Renate G. van der Molen, Xavier Bossuyt, et Jan Damoiseaux. 2015. « Antigen excess in modern immunoassays: To anticipate on the unexpected ». *Autoimmunity Reviews* 14(2):160‑67.

Jacobs, Joannes F. M., Renate G. van der Molen, et David F. Keren. 2014a. « Relatively Restricted Migration of Polyclonal IgG4 May Mimic a Monoclonal Gammopathy in IgG4-Related Disease ». *American Journal of Clinical Pathology* 142(1):76‑81.

Jacobs, Joannes F. M., Renate G. van der Molen, et David F. Keren. 2014b. « Relatively Restricted Migration of Polyclonal IgG4 May Mimic a Monoclonal Gammopathy in IgG4-Related Disease ». *American Journal of Clinical Pathology* 142(1):76‑81.

James, Louisa K. et Stephen J. Till. 2016. « Potential Mechanisms for IgG4 Inhibition of Immediate Hypersensitivity Reactions ». *Current Allergy and Asthma Reports* 16.

Jeannin, P., S. Lecoanet, Y. Delneste, J. F. Gauchat, et J. Y. Bonnefoy. 1998. « IgE versus IgG4 Production Can Be Differentially Regulated by IL-10 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 160(7):3555‑61.

Jefferis, Roy et Marie-Paule Lefranc. 2009. « Human immunoglobulin allotypes ». *mAbs* 1(4):332‑38.

Jiang, Xu-Rong, An Song, Svetlana Bergelson, Thomas Arroll, Bhavin Parekh, Kimberly May, Shan Chung, Robert Strouse, Anthony Mire-Sluis, et Mark Schenerman. 2011. « Advances in the Assessment and Control of the Effector Functions of Therapeutic Antibodies ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 10(2):101‑11.

Jones, M., H. Jeal, S. Schofield, J. M. Harris, M. H. Shamji, J. N. Francis, S. R. Durham, et P. Cullinan. 2014. « Rat-Specific IgG and IgG_4 Antibodies Associated with Inhibition of IgE-Allergen Complex Binding in Laboratory Animal Workers ». *Occupational and Environmental Medicine* 71(9):619‑23.

Joshi, Deepak, Rolf Jager, Steven Hurel, Stephen P. Pereira, Gavin J. Johnson, Michael Chapman, Robert Fowler, Alison Winstanley, Nicholas Losseff, et George Jm Webster. 2015. « Cerebral Involvement in IgG4-Related Disease ». *Clinical Medicine (London, England)* 15(2):130‑34.

Kamchaisatian, Wasu, Watcharaphong Wanwatsuntikul, John W. Sleasman, et Nutthapong Tangsinmankong. 2006. « Validation of Current Joint American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and American College of Allergy, Asthma and Immunology Guidelines for Antibody Response to the 23-Valent Pneumococcal Vaccine Using a Population of HIV-Infected Children ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 118(6):1336‑41.

Kamisawa, T., T. Shimosegawa, K. Okazaki, T. Nishino, H. Watanabe, A. Kanno, F. Okumura, T. Nishikawa, K. Kobayashi, T. Ichiya, H. Takatori, K. Yamakita, K. Kubota, H. Hamano, K. Okamura, K. Hirano, T. Ito, S. B. H. Ko, et M. Omata. 2009. « Standard Steroid Treatment for Autoimmune Pancreatitis ». *Gut* 58(11):1504‑7.

Kamisawa, Terumi, Nobuaki Funata, Yukiko Hayashi, Yoshinobu Eishi, Morio Koike, Kouji Tsuruta, Atsutake Okamoto, Naoto Egawa, et Hitoshi Nakajima. 2003. « A New Clinicopathological Entity of IgG4-Related Autoimmune Disease ». *Journal of Gastroenterology* 38(10):982‑84.

Kamisawa, Terumi, Atsutake Okamoto, et Nobuaki Funata. 2005. « Clinicopathological Features of Autoimmune Pancreatitis in Relation to Elevation of Serum IgG4 ». *Pancreas* 31(1):28‑31.

Kamisawa, Terumi, Yoh Zen, Shiv Pillai, et John H. Stone. 2015. « IgG4-Related Disease ». *The Lancet* 385(9976):1460‑71.

Kaplon, Hélène et Janice M. Reichert. 2019. « Antibodies to Watch in 2019 ». *MAbs* 11(2):219‑38.

Karagiannis, Panagiotis, Amy E. Gilbert, Debra H. Josephs, Niwa Ali, Tihomir Dodev, Louise Saul, Isabel Correa, Luke Roberts, Emma Beddowes, Alexander Koers, Carl Hobbs, Silvia Ferreira, Jenny L. C. Geh, Ciaran Healy, Mark Harries, Katharine M. Acland, Philip J. Blower, Tracey Mitchell, David J. Fear, James F. Spicer, Katie E. Lacy, Frank O. Nestle, et Sophia N. Karagiannis. 2013. « IgG4 Subclass Antibodies Impair Antitumor Immunity in Melanoma ». *The Journal of Clinical Investigation* 123(4):1457‑74.

Karagiannis, Panagiotis, Amy E. Gilbert, Frank O. Nestle, et Sophia N. Karagiannis. 2013. « IgG4 Antibodies and Cancer-Associated Inflammation: Insights into a Novel Mechanism of Immune Escape ». *Oncoimmunology* 2(7):e24889.

Karagiannis, Panagiotis, Federica Villanova, Debra H. Josephs, Isabel Correa, Mieke Van Hemelrijck, Carl Hobbs, Louise Saul, Isioma U. Egbuniwe, Isabella Tosi, Kristina M. Ilieva, Emma Kent, Eduardo Calonje, Mark Harries, Ian Fentiman, Joyce Taylor-Papadimitriou, Joy Burchell, James F. Spicer, Katie E. Lacy, Frank O. Nestle, et Sophia N. Karagiannis. 2015. « Elevated IgG4 in Patient Circulation Is Associated with the Risk of Disease Progression in Melanoma ». *Oncoimmunology* 4(11):e1032492.

Karim, Faiz, Marian Clahsen-van Groningen, et Jan A. M. van Laar. 2017. « AA Amyloidosis and IgG4-Related Disease ». *The New England Journal of Medicine* 376(6):599‑600.

Karim, Faiz, Jan Loeffen, Wichor Bramer, Lauren Westenberg, Rob Verdijk, Martin van Hagen, et Jan van Laar. 2016. « IgG4-Related Disease: A Systematic Review of This Unrecognized Disease in Pediatrics ». *Pediatric Rheumatology* 14(1):18.

Karsan, Nazia et Peter J. Goadsby. 2015. « Calcitonin Gene-Related Peptide and Migraine »: *Current Opinion in Neurology* 28(3):250‑54.

Kasashima, Satomi et Yoh Zen. 2011. « IgG4-Related Inflammatory Abdominal Aortic Aneurysm ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):18‑23.

Kasashima, Satomi, Yoh Zen, Atsuhiro Kawashima, Keiko Konishi, Hisao Sasaki, Masamitsu Endo, Yasushi Matsumoto, Kengo Kawakami, Fuminori Kasashima, Makio Moriya, Keiichi Kimura, Hiroshi Ohtake, et Yasuni Nakanuma. 2008. « Inflammatory Abdominal Aortic Aneurysm: Close Relationship to IgG4-Related Periaortitis ». *The American Journal of Surgical Pathology* 32(2):197‑204.

Kaufmann, Stefan H. E. 2017. « Emil von Behring: Translational Medicine at the Dawn of Immunology ». *Nature Reviews Immunology* 17(6):341‑43.

Kawa, Shigeyuki, Kei Kitahara, Hideaki Hamano, Yayoi Ozaki, Norikazu Arakura, Kaname Yoshizawa, Takeji Umemura, Masao Ota, Sadaaki Mizoguchi, Yasunori Shimozuru, et Seiamak Bahram. 2008. « A Novel Immunoglobulin-Immunoglobulin Interaction in Autoimmunity ». *PloS One* 3(2):e1637.

Kawashima, Hirotoshi, Atsunari Utsugi, Asuka Shibamiya, Kazuma Iida, Norihiro Mimura, Hirohumi Ohashi, Ryota Hase, Makio Kawakami, Takao Yanagisawa, et Masaki Hiraguri. 2019. « Consideration Concerning Similarities and Differences between ANCA-Associated Vasculitis and IgG-4-Related Diseases: Case Series and Review of Literature ». *Immunologic Research* 67(1):99‑107.

Keir, M., L. Francisco, et A. Sharpe. 2007. « PD-1 and Its Ligands in T-Cell Immunity ». *Current Opinion in Immunology* 19(3):309‑14.

Khosroshahi, A., Z. S. Wallace, J. L. Crowe, T. Akamizu, A. Azumi, M. N. Carruthers, S. T. Chari, E. Della-Torre, L. Frulloni, H. Goto, P. A. Hart, T. Kamisawa, S. Kawa, M. Kawano, M. H. Kim, Y. Kodama, K. Kubota, M. M. Lerch, M. Löhr, Y. Masaki, S. Matsui, T. Mimori, S. Nakamura, T. Nakazawa, H. Ohara, K. Okazaki, J. H. Ryu, T. Saeki, N. Schleinitz, A. Shimatsu, T. Shimosegawa, H. Takahashi, M. Takahira, A. Tanaka, M. Topazian, H. Umehara, G. J. Webster, T. E. Witzig, M. Yamamoto, W. Zhang, T. Chiba, et J. H. Stone. 2015. « International Consensus Guidance Statement on the Management and Treatment of IgG4-Related Disease: INTERNATIONAL CONSENSUS STATEMENT ON IgG4-RD MANAGEMENT ». *Arthritis & Rheumatology* 67(7):1688‑99.

Khosroshahi, Arezou, Donald B. Bloch, Vikram Deshpande, et John H. Stone. 2010. « Rituximab Therapy Leads to Rapid Decline of Serum IgG4 Levels and Prompt Clinical Improvement in IgG4-Related Systemic Disease ». *Arthritis and Rheumatism* 62(6):1755‑62.

Khosroshahi, Arezou, Mollie N. Carruthers, Vikram Deshpande, Sebastian Unizony, Donald B. Bloch, et John H. Stone. 2012. « Rituximab for the Treatment of IgG4-Related Disease: Lessons from 10 Consecutive Patients ». *Medicine* 91(1):57‑66.

Khosroshahi, Arezou, Mollie N. Carruthers, John H. Stone, Shweta Shinagare, Nisha Sainani, Robert P. Hasserjian, et Vikram Deshpande. 2013. « Rethinking Ormond's Disease: "Idiopathic" Retroperitoneal Fibrosis in the Era of IgG4-Related Disease ». *Medicine* 92(2):82‑91.

Khosroshahi, Arezou, Lynn A. Cheryk, Mollie N. Carruthers, Judith A. Edwards, Donald B. Bloch, et John H. Stone. 2014. « Brief Report: Spuriously Low Serum IgG4 Concentrations Caused by the Prozone Phenomenon in Patients with IgG4-Related Disease ». *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 66(1):213‑17.

Khosroshahi, Arezou et John H. Stone. 2011a. « A Clinical Overview of IgG4-Related Systemic Disease ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):57‑66.

Khosroshahi, Arezou et John H. Stone. 2011b. « Treatment Approaches to IgG4-Related Systemic Disease ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):67‑71.

Khovanova, Natasha, Sunil Daga, Torgyn Shaikhina, Nithya Krishnan, James Jones, Daniel Zehnder, Daniel Mitchell, Robert Higgins, David Briggs, et David Lowe. 2015. « Subclass Analysis of Donor HLA-Specific IgG in Antibody-Incompatible Renal Transplantation Reveals a Significant Association of IgG4 with Rejection and Graft Failure ». *Transplant International: Official Journal of the European Society for Organ Transplantation* 28(12):1405‑15.

King, D. J., J. R. Adair, S. Angal, D. C. Low, K. A. Proudfoot, J. C. Lloyd, M. W. Bodmer, et G. T. Yarranton. 1992. « Expression, Purification and Characterization of a Mouse-Human Chimeric Antibody and Chimeric Fab' Fragment ». *The Biochemical Journal* 281 (Pt 2):317‑23.

Kitazawa, Takehisa, Keiko Esaki, Tatsuhiko Tachibana, Shinya Ishii, Tetsuhiro Soeda, Atsushi Muto, Yoshiki Kawabe, Tomoyuki Igawa, Hiroyuki Tsunoda, Keiji Nogami, Midori Shima, et Kunihiro Hattori. 2017. « Factor VIIIa-Mimetic Cofactor Activity of a Bispecific Antibody to Factors IX/IXa and X/Xa, Emicizumab, Depends on Its Ability to Bridge the Antigens ». *Thrombosis and Haemostasis* 117(07):1348‑57.

Klooster, Rinse, Jaap J. Plomp, Maartje G. Huijbers, Erik H. Niks, Kirsten R. Straasheijm, Frank J. Detmers, Pim W. Hermans, Kevin Sleijpen, Aad Verrips, Mario Losen, Pilar Martinez-Martinez, Marc H. De Baets, Silvère M. van der Maarel, et Jan J. Verschuuren. 2012. « Muscle-Specific Kinase Myasthenia Gravis IgG4 Autoantibodies Cause Severe Neuromuscular Junction Dysfunction in Mice ». *Brain* 135(4):1081‑1101.

Köhler, G. et C. Milstein. 1975. « Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity ». *Nature* 256(5517):495‑97.

Koneczny, Inga. 2018. « A New Classification System for IgG4 Autoantibodies ». *Frontiers in Immunology* 9.

Koneczny, Inga, Judith Cossins, Patrick Waters, David Beeson, et Angela Vincent. 2013. « MuSK Myasthenia Gravis IgG4 Disrupts the Interaction of LRP4 with MuSK but Both IgG4 and IgG1-3 Can Disperse Preformed Agrin-Independent AChR Clusters » édité par L. Mei. *PLoS ONE* 8(11):e80695.

Koneczny, Inga, Jo A. A. Stevens, Anna De Rosa, Saif Huda, Maartje G. Huijbers, Abhishek Saxena, Michelangelo Maestri, Konstantinos Lazaridis, Paraskevi Zisimopoulou, Socrates Tzartos, Jan Verschuuren, Silvère M. van der Maarel, Philip van Damme, Marc H. De Baets, Peter C. Molenaar, Angela Vincent, Roberta Ricciardi, Pilar Martinez-Martinez, et Mario Losen. 2017. « IgG4 Autoantibodies against Muscle-Specific Kinase Undergo Fab-Arm Exchange in Myasthenia Gravis Patients ». *Journal of Autoimmunity* 77:104‑15.

Koo, Bon San, Young Wha Koh, SeokChan Hong, You Jae Kim, Yong-Gil Kim, Chang-Keun Lee, et Bin Yoo. 2014. « Frequency of Immunoglobulin G4-Related Aortitis in Cases with Aortic Resection and Their Clinical

Characteristics Compared to Other Aortitises ». *International Journal of Rheumatic Diseases* 17(4):420‑24.

Kurniawan, A., M. Yazdanbakhsh, R. van Ree, R. Aalberse, M. E. Selkirk, F. Partono, et R. M. Maizels. 1993. « Differential Expression of IgE and IgG4 Specific Antibody Responses in Asymptomatic and Chronic Human Filariasis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 150(9):3941‑50.

Labasque, Marilyne, Bruno Hivert, Gisela Nogales-Gadea, Luis Querol, Isabel Illa, et Catherine Faivre-Sarrailh. 2014. « Specific Contactin *N* -Glycans Are Implicated in Neurofascin Binding and Autoimmune Targeting in Peripheral Neuropathies ». *Journal of Biological Chemistry* 289(11):7907‑18.

Labrijn, Aran F., Antonio Ortiz Buijsse, Ewald T. J. van den Bremer, Annemiek Y. W. Verwilligen, Wim K. Bleeker, Susan J. Thorpe, Joep Killestein, Chris H. Polman, Rob C. Aalberse, Janine Schuurman, Jan G. J. van de Winkel, et Paul W. H. I. Parren. 2009. « Therapeutic IgG4 Antibodies Engage in Fab-Arm Exchange with Endogenous Human IgG4 in Vivo ». *Nature Biotechnology* 27(8):767‑71.

Labrijn, Aran F., Theo Rispens, Joyce Meesters, Rebecca J. Rose, Tamara H. den Bleker, Stefan Loverix, Ewald T. J. van den Bremer, Joost Neijssen, Tom Vink, Ignace Lasters, Rob C. Aalberse, Albert J. R. Heck, Jan G. J. van de Winkel, Janine Schuurman, et Paul W. H. I. Parren. 2011. « Species-Specific Determinants in the IgG CH3 Domain Enable Fab-Arm Exchange by Affecting the Noncovalent CH3-CH3 Interaction Strength ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 187(6):3238‑46.

de Lange, G. G. 1989. « Polymorphisms of Human Immunoglobulins: Gm, Am, Em and Km Allotypes ». *Experimental and Clinical Immunogenetics* 6(1):7‑17.

Larsen, Jørgen Nedergaard, Louise Broge, et Henrik Jacobi. 2016. « Allergy immunotherapy: the future of allergy treatment ». *Drug Discovery Today* 21(1):26‑37.

Lee, Keun-Wook, Dae Ho Lee, Jin Hyoung Kang, Joon Oh Park, Se Hyun Kim, Yong Sang Hong, Seung Tae Kim, Do-Youn Oh, et Yung-Jue Bang. 2018. « Phase I Pharmacokinetic Study of Nivolumab in Korean Patients with Advanced Solid Tumors ». *The Oncologist* 23(2):155-e17.

Lefaucheur, Carmen, Denis Viglietti, Carol Bentlejewski, Jean-Paul Duong van Huyen, Dewi Vernerey, Olivier Aubert, Jérôme Verine, Xavier Jouven, Christophe Legendre, Denis Glotz, Alexandre Loupy, et Adriana Zeevi. 2016. « IgG Donor-Specific Anti-Human HLA Antibody Subclasses and Kidney Allograft Antibody-Mediated Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 27(1):293‑304.

Lennerz, Jochen K., Victor Rühle, Eugene P. Ceppa, Winfried L. Neuhuber, Nigel W. Bunnett, Eileen F. Grady, et Karl Messlinger. 2008. « Calcitonin Receptor-like Receptor (CLR), Receptor Activity-Modifying Protein 1 (RAMP1), and Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Immunoreactivity in the Rat Trigeminovascular System: Differences between Peripheral and Central CGRP Receptor Distribution ». *The Journal of Comparative Neurology* 507(3):1277‑99.

Li, Yaqiong, Yanhua Bai, Zhiyan Liu, Takashi Ozaki, Emiko Taniguchi, Ichiro Mori, Koji Nagayama, Hirotoshi Nakamura, et Kennichi Kakudo. 2009. « Immunohistochemistry of IgG4 Can Help Subclassify Hashimoto's Autoimmune Thyroiditis ». *Pathology International* 59(9):636‑41.

Lian, Linjuan, Cong Wang, et Jian-Li Tian. 2016. « IgG4-Related Retroperitoneal Fibrosis: A Newly Characterized Disease ». *International Journal of Rheumatic Diseases* 19(11):1049‑55.

Lin, Adora A., Alexandra F. Freeman, et Thomas B. Nutman. 2018. « IL-10 Indirectly Downregulates IL-4–Induced IgE Production by Human B Cells ». *ImmunoHorizons* 2(11):398‑406.

Lin, Wei, Panpan Zhang, Hua Chen, Yu Chen, Hongxian Yang, Wenjie Zheng, Xuan Zhang, Fengxiao Zhang, Wen Zhang, et Peter E. Lipsky. 2017. « Circulating Plasmablasts/Plasma Cells: A Potential Biomarker for IgG4-Related Disease ». *Arthritis Research & Therapy* 19(1):25.

Liu, Hongcheng et Kimberly May. 2012. « Disulfide Bond Structures of IgG Molecules: Structural Variations, Chemical Modifications and Possible Impacts to Stability and Biological Function ». *MAbs* 4(1):17‑23.

Lo, Agnes S., Xuming Mao, Eric M. Mukherjee, Christoph T. Ellebrecht, Xiaocong Yu, Marshall R. Posner, Aimee S. Payne, et Lisa A. Cavacini. 2016. « Pathogenicity and Epitope Characteristics Do Not Differ in IgG Subclass-Switched Anti-Desmoglein 3 IgG1 and IgG4 Autoantibodies in Pemphigus Vulgaris ». *PLoS ONE* 11(6).

Lobb, R. R. et M. E. Hemler. 1994. « The Pathophysiologic Role of Alpha 4 Integrins in Vivo. » *Journal of Clinical Investigation* 94(5):1722‑28.

Lock, Robert J., Michael J. Wallage, Dina Patel, Kirsty Swallow, et William Egner. 2014. « The Prozone Effect in Serum Assays for IgG4: Comment on the Article by Khosroshahi et Al ». *Arthritis & Rheumatology* 66(11):3246‑47.

López-Chiriboga, A. Sebastian et Stacey L. Clardy. 2017. « Emerging Subspecialties in Neurology: Autoimmune Neurology ». *Neurology* 89(11):e129‑33.

Lu, Yanling, Stephen E. Harding, Terje E. Michaelsen, Emma Longman, Kenneth G. Davis, Alvaro Ortega, J. Günter Grossmann, Inger Sandlie, et José García de la Torre. 2007. « Solution Conformation of Wild-Type and Mutant IgG3 and IgG4 Immunoglobulins Using Crystallohydrodynamics: Possible Implications for Complement Activation ». *Biophysical Journal* 93(11):3733‑44.

Lu, Zhang, Liu Tongxi, Luo Jie, Jiao Yujuan, Jiang Wei, Liu Xia, Zheng Yumin, et Lu Xin. 2016. « IgG4-Related Spinal Pachymeningitis ». *Clinical Rheumatology* 35(6):1549‑53.

Luken, B. M., P. H. P. Kaijen, E. a. M. Turenhout, J. a. Kremer Hovinga, J. a. Van Mourik, R. Fijnheer, et J. Voorberg. 2006. « Multiple B-Cell Clones Producing Antibodies Directed to the Spacer and Disintegrin/Thrombospondin Type-1 Repeat 1 (TSP1) of ADAMTS13 in a Patient with Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura ». *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4(11):2355‑64.

Mac, Kathy, Xiao Juan Wu, Jun Mai, Kenneth Howlin, Michael Suranyi, Jim Yong, et Angela Makris. 2017. « The Incidence of IgG4-Positive Plasma Cells Staining TIN in Patients with Biopsy-Proven Tubulointerstitial Nephritis ». *Journal of Clinical Pathology* 70(6):483‑87.

Mahajan, Vinay S., Hamid Mattoo, Vikram Deshpande, Shiv S. Pillai, et John H. Stone. 2014. « IgG4-Related Disease ». *Annual Review of Pathology* 9:315‑47.

Mahlangu, Johnny, Johannes Oldenburg, Ido Paz-Priel, Claude Negrier, Markus Niggli, M. Elisa Mancuso, Christophe Schmitt, Victor Jiménez-Yuste, Christine Kempton, Christophe Dhalluin, Michael U. Callaghan, Willem Bujan, Midori Shima, Joanne I. Adamkewicz, Elina Asikanius, Gallia G. Levy, et Rebecca Kruse-Jarres. 2018. « Emicizumab Prophylaxis in Patients Who

Have Hemophilia A without Inhibitors ». *New England Journal of Medicine* 379(9):811‑22.

Manso, Constance, Luis Querol, Mourad Mekaouche, Isabel Illa, et Jérôme J. Devaux. 2016. « Contactin-1 IgG4 Antibodies Cause Paranode Dismantling and Conduction Defects ». *Brain* 139(6):1700‑1712.

Markham, Anthony. 2018. « Ibalizumab: First Global Approval ». *Drugs* 78(7):781‑85.

Masaki, Y., L. Dong, N. Kurose, K. Kitagawa, Y. Morikawa, M. Yamamoto, H. Takahashi, Y. Shinomura, K. Imai, T. Saeki, A. Azumi, S. Nakada, E. Sugiyama, S. Matsui, T. Origuchi, S. Nishiyama, I. Nishimori, T. Nojima, K. Yamada, M. Kawano, Y. Zen, M. Kaneko, K. Miyazaki, K. Tsubota, K. Eguchi, K. Tomoda, T. Sawaki, T. Kawanami, M. Tanaka, T. Fukushima, S. Sugai, et H. Umehara. 2009. « Proposal for a New Clinical Entity, IgG4-Positive Multiorgan Lymphoproliferative Syndrome: Analysis of 64 Cases of IgG4-Related Disorders ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 68(8):1310‑15.

Matsui, E. C., G. B. Diette, E. J. M. Krop, R. C. Aalberse, A. L. Smith, J. Curtin-Brosnan, et P. A. Eggleston. 2005. « Mouse Allergen-Specific Immunoglobulin G and Immunoglobulin G4 and Allergic Symptoms in Immunoglobulin E-Sensitized Laboratory Animal Workers ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 35(10):1347‑53.

Matsui, Shoko, Hiroshi Yamamoto, Seijiro Minamoto, Yuko Waseda, Michiaki Mishima, et Keishi Kubo. 2016. « Proposed Diagnostic Criteria for IgG4-Related Respiratory Disease ». *Respiratory Investigation* 54(2):130‑32.

Mattoo, Hamid, Vinay S. Mahajan, Emanuel Della-Torre, Yurie Sekigami, Mollie Carruthers, Zachary S. Wallace, Vikram Deshpande, John H. Stone, et Shiv Pillai. 2014. « De Novo Oligoclonal Expansions of Circulating Plasmablasts in Active and Relapsing IgG4-Related Disease ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134(3):679‑87.

Mattoo, Hamid, Vinay S. Mahajan, Takashi Maehara, Vikram Deshpande, Emanuel Della-Torre, Zachary S. Wallace, Maria Kulikova, Jefte M. Drijvers, Joe Daccache, Mollie N. Carruthers, Flavia V. Castelino, James R. Stone, John H. Stone, et Shiv Pillai. 2016. « Clonal Expansion of CD4(+) Cytotoxic T Lymphocytes in Patients with IgG4-Related Disease ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 138(3):825‑38.

McAlister, Vivian C. 2019. « Anti-Donor Immunoglobulin G Subclass in Liver Transplantation ». *HepatoBiliary Surgery and Nutrition* 8(2):125‑28.

McConville, John, Maria Elena Farrugia, David Beeson, Uday Kishore, Richard Metcalfe, John Newsom-Davis, et Angela Vincent. 2004. « Detection and Characterization of MuSK Antibodies in Seronegative Myasthenia Gravis ». *Annals of Neurology* 55(4):580‑84.

McLean-Tooke, Andrew, Michael O'Sullivan, Tracie Easter, et Richard Loh. 2013. « Differences between Total IgG and Sum of the IgG Subclasses in Clinical Samples ». *Pathology* 45(7):675‑77.

McSorley, Henry J. et Rick M. Maizels. 2012. « Helminth Infections and Host Immune Regulation ». *Clinical Microbiology Reviews* 25(4):585‑608.

Meiler, F., S. Klunker, M. Zimmermann, C. A. Akdis, et M. Akdis. 2008. « Distinct Regulation of IgE, IgG4 and IgA by T Regulatory Cells and Toll-like Receptors ». *Allergy* 63(11):1455‑63.

Meiler, Flurina, Judith Zumkehr, Sven Klunker, Beate Rückert, Cezmi A. Akdis, et Mübeccel Akdis. 2008. « In Vivo Switch to IL-10-Secreting T Regulatory Cells in High Dose Allergen Exposure ». *The Journal of Experimental Medicine* 205(12):2887‑98.

Miguel, J. F. San, M. Gonzalez, M. J. Moro, J. M. Hernandez, F. Ortega, D. Borrego, M. Carnero, F. Casanova, J. A. Portero, et A. Orflo. 1995. « A New Staging System for Multiple Myeloma Based on the Number of S-Phase Plasma Cells ». 9.

Miura, Yumako, Jérôme J. Devaux, Yuki Fukami, Constance Manso, Maya Belghazi, Anna Hiu Yi Wong, Nobuhiro Yuki, et for the CNTN1-CIDP Study Group. 2015. « Contactin 1 IgG4 Associates to Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy with Sensory Ataxia ». *Brain* 138(6):1484‑91.

Monteith, David, Emily C. Collins, Corinne Vandermeulen, Anne Van Hecken, Eyas Raddad, Joel C. Scherer, David Grayzel, Thomas J. Schuetz, et Jan de Hoon. 2017. « Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of the CGRP Binding Monoclonal Antibody LY2951742 (Galcanezumab) in Healthy Volunteers ». *Frontiers in Pharmacology* 8:740.

Moon, Sung-Hoon, Myung-Hwan Kim, Jong Kyun Lee, Seunghee Baek, Young Sik Woo, Dong Hui Cho, Dongwook Oh, Tae Jun Song, Do Hyun Park, Sang Soo Lee, Dong Wan Seo, et Sung Koo Lee. 2017. « Development of a Scoring System for Differentiating IgG4-Related Sclerosing Cholangitis from Primary Sclerosing Cholangitis ». *Journal of Gastroenterology* 52(4):483‑93.

Mori, Shuuichi, Sachiho Kubo, Takuyu Akiyoshi, Shigeru Yamada, Tsuyoshi Miyazaki, Harumi Hotta, Junzo Desaki, Masahiko Kishi, Tetsuro Konishi, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Naoki Maruyama, et Kazuhiro Shigemoto. 2012. « Antibodies against Muscle-Specific Kinase Impair Both Presynaptic and Postsynaptic Functions in a Murine Model of Myasthenia Gravis ». *The American Journal of Pathology* 180(2):798‑810.

Murashima, Miho, John Tomaszewski, et Joel D. Glickman. 2007. « Chronic Tubulointerstitial Nephritis Presenting as Multiple Renal Nodules and Pancreatic Insufficiency ». *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation* 49(1):e7-10.

Murphy, Kenneth et Casey Weaver. 2016. *Janeway's Immunobiology*. Garland Science.

MUTAGENETIX (TM), B. Beutler et al. 2018. « Mutagenetix > Phenotypic Mutation "Penny" ». Consulté 16 août 2019 (http://mutagenetix.utsouthwestern.edu/phenotypic/phenotypic_rec.cfm?pk=2292&ac=1&so=sm&dpcd=%2D1%2C0%2C1&pto=0&nr=0&rn=94&r0=0).

Naparstek, Yaakov et Paul H. Plotz. 1993. « The Role of Autoantibodies in Autoimmune Disease ». 26.

van der Neut Kolfschoten, Marijn, Janine Schuurman, Mario Losen, Wim K. Bleeker, Pilar Martínez-Martínez, Ellen Vermeulen, Tamara H. den Bleker, Luus Wiegman, Tom Vink, Lucien A. Aarden, Marc H. De Baets, Jan G. J. van de Winkel, Rob C. Aalberse, et Paul W. H. I. Parren. 2007. « Anti-Inflammatory Activity of Human IgG4 Antibodies by Dynamic Fab Arm Exchange ». *Science (New York, N.Y.)* 317(5844):1554‑57.

Nishimori, Isao, Akiko Tamakoshi, Makoto Otsuki, et Research Committee on Intractable Diseases of the Pancreas, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. 2007. « Prevalence of Autoimmune Pancreatitis in Japan from a Nationwide Survey in 2002 ». *Journal of Gastroenterology* 42 Suppl 18:6‑8.

Norman, Douglas J., Charles F. Shield, III, John M. Barry, Karen Henell, Beth Funnell, et Judy Lemon. 1987. « Therapeutic Use of OKT3 Monoclonal Antibody for Acute Renal Allograft Rejection ». *Nephron* 46(1):41‑47.

Noseworthy, John H. et Peter Kirkpatrick. 2005. « Natalizumab ». *Nature Reviews Drug Discovery* 4(2):101‑2.

Ohkawa, Toshika, Yuko Fukata, Miwako Yamasaki, Taisuke Miyazaki, Norihiko Yokoi, Hiroshi Takashima, Masahiko Watanabe, Osamu Watanabe, et Masaki Fukata. 2013. « Autoantibodies to Epilepsy-Related LGI1 in Limbic Encephalitis Neutralize LGI1-ADAM22 Interaction and Reduce Synaptic AMPA Receptors ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33(46):18161‑74.

Ohlsson, Sophie, Hans Herlitz, Sigrid Lundberg, Daina Selga, Johan Mölne, Jörgen Wieslander, et Mårten Segelmark. 2014. « Circulating Anti-Glomerular Basement Membrane Antibodies with Predominance of Subclass IgG4 and False-Negative Immunoassay Test Results in Anti-Glomerular Basement Membrane Disease ». *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation* 63(2):289‑93.

Okazaki, Kazuichi, Kazushige Uchida, Masanori Koyabu, Hideaki Miyoshi, et Makoto Takaoka. 2011. « Recent Advances in the Concept and Diagnosis of Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease ». *Journal of Gastroenterology* 46(3):277‑88.

Osborn, Laurelee, Catherine Hession, Richard Tizard, Cornelia Vassallo, Stefan Luhowskyj, Gloria Chi-Rosso, et Roy Lobb. 1989. « Direct Expression Cloning of Vascular Cell Adhesion Molecule 1, a Cytokine-Induced Endothelial Protein That Binds to Lymphocytes ». *Cell* 59(6):1203‑11.

Ostertag, Eric M., Khalil Bdeir, Stephen Kacir, Michelle Thiboutot, Gayathri Gulendran, Lenka Yunk, Vincent M. Hayes, David G. Motto, Mortimer Poncz, X. Long Zheng, Douglas B. Cines, et Don L. Siegel. 2016. « ADAMTS13 Autoantibodies Cloned from Patients with Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: 2. Pathogenicity in an animal model ». *Transfusion* 56(7):1775‑85.

Ozawa, Makiko, Yasunari Fujinaga, Junpei Asano, Akira Nakamura, Takayuki Watanabe, Tetsuya Ito, Takashi Muraki, Hideaki Hamano, et Shigeyuki Kawa. 2017. « Clinical Features of IgG4-Related Periaortitis/Periarteritis Based on the Analysis of 179 Patients with IgG4-Related Disease: A Case-Control Study ». *Arthritis Research & Therapy* 19(1):223.

Palmisano, Alessandra et Augusto Vaglio. 2009. « Chronic Periaortitis: A Fibro-Inflammatory Disorder ». *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology* 23(3):339‑53.

Papadea, C., C. B. Reimer, et I. J. Check. 1989. « IgG Subclass Distribution in Patients with Multiple Myeloma or with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance ». *Annals of Clinical and Laboratory Science* 19(1):27‑37.

Parker, Antony R. et Hugh D. Carr-Smith. 2014. « Calibration Differences and the Prozone Phenomenon in IgG4-Related Disease: Comment on the Article by Khosroshahi et Al ». *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 66(7):1964‑65.

Parker, Antony R., Markus Skold, David B. Ramsden, J. Gonzalo Ocejo-Vinyals, Marcos López-Hoyos, et Stephen Harding. 2017. « The Clinical Utility of Measuring IgG Subclass Immunoglobulins During Immunological Investigation for Suspected Primary Antibody Deficiencies ». *Laboratory Medicine* 48(4):314‑25.

Pasternak, Gerard, Aleksandra Lewandowicz-Uszyńska, et Katarzyna Pentoś. 2018. « Analysis of differences between total IgG and sum of the IgG subclasses in children with suspected immunodeficiency – indication of determinants ». *BMC Immunology* 19.

Payne, Aimee S., Ken Ishii, Stephen Kacir, Chenyan Lin, Hong Li, Yasushi Hanakawa, Kazuyuki Tsunoda, Masayuki Amagai, John R. Stanley, et Don L. Siegel. 2005. « Genetic and Functional Characterization of Human Pemphigus Vulgaris Monoclonal Autoantibodies Isolated by Phage Display ». *The Journal of Clinical Investigation* 115(4):888‑99.

Peles, E. 1997. « Identification of a Novel Contactin-Associated Transmembrane Receptor with Multiple Domains Implicated in Protein-Protein Interactions ». *The EMBO Journal* 16(5):978‑88.

Pellier, Isabelle, Nizar Mahlaoui, Capucine Picard, et Alain Fischer. 2013. « CEREDIH_Recos_Sous-Classes_IgG_2013_Final.pdf ». *CEREDIH (Le Centre de Référence Déficits Immunitaires Héréditaires)*. Consulté 8 août 2019 (https://www.ceredih.fr/uploads/CEREDIH_Recos_Sous-Classes_IgG_2013_Final.pdf).

Perugino, Cory A., Sultan B. AlSalem, Hamid Mattoo, Emanuel Della-Torre, Vinay Mahajan, Gayathri Ganesh, Hugues Allard-Chamard, Zachary Wallace, Sydney B. Montesi, Johannes Kreuzer, Wilhelm Haas, John H. Stone, et Shiv Pillai. 2019. « Identification of Galectin-3 as an Autoantigen in Patients with IgG4-Related Disease ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 143(2):736-745.e6.

Picard, Capucine. 2007. « Déficits immunitaires - optimiser leur approche ». *LA REVUE DU PRATICIEN* 57:6.

Pinatel, Delphine, Bruno Hivert, José Boucraut, Margaux Saint-Martin, Véronique Rogemond, Lida Zoupi, Domna Karagogeos, Jérôme Honnorat, et Catherine Faivre-Sarrailh. 2015. « Inhibitory Axons Are Targeted in Hippocampal Cell Culture by Anti-Caspr2 Autoantibodies Associated with Limbic Encephalitis ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 9:265.

Platts-Mills, T., J. Vaughan, S. Squillace, J. Woodfolk, et R. Sporik. 2001. « Sensitisation, Asthma, and a Modified Th2 Response in Children Exposed to Cat Allergen: A Population-Based Cross-Sectional Study ». *Lancet (London, England)* 357(9258):752‑56.

Platts-Mills, Thomas A. E., Judith A. Woodfolk, Elizabeth A. Erwin, et Rob Aalberse. 2004. « Mechanisms of Tolerance to Inhalant Allergens: The Relevance of a Modified Th2 Response to Allergens from Domestic Animals ». *Springer Seminars in Immunopathology* 25(3‑4):271‑79.

Punnonen, J., G. Aversa, B. G. Cocks, A. N. McKenzie, S. Menon, G. Zurawski, R. de Waal Malefyt, et J. E. de Vries. 1993. « Interleukin 13 Induces Interleukin 4-Independent IgG4 and IgE Synthesis and CD23 Expression by Human B Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90(8):3730‑34.

Punnonen, J., R. de Waal Malefyt, P. van Vlasselaer, J. F. Gauchat, et J. E. de Vries. 1993. « IL-10 and Viral IL-10 Prevent IL-4-Induced IgE Synthesis by Inhibiting the Accessory Cell Function of Monocytes ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 151(3):1280‑89.

Querol, Luis, Jérôme Devaux, Ricard Rojas-Garcia, et Isabel Illa. 2017. « Autoantibodies in Chronic Inflammatory Neuropathies: Diagnostic and Therapeutic Implications ». *Nature Reviews. Neurology* 13(9):533‑47.

Querol, Luis, Gisela Nogales-Gadea, Ricard Rojas-Garcia, Eugenia Martinez-Hernandez, Jordi Diaz-Manera, Xavier Suárez-Calvet, Miquel Navas, Josefa Araque, Eduard Gallardo, et Isabel Illa. 2013. « Antibodies to Contactin-1 in Chronic Inflammatory Demyelinating

Polyneuropathy: Contactin-1 in Aggressive CIDP ». *Annals of Neurology* 73(3):370‑80.

Rios, Jose C., Carmen V. Melendez-Vasquez, Steven Einheber, Marc Lustig, Martin Grumet, John Hemperly, Elior Peles, et James L. Salzer. 2000. « Contactin-Associated Protein (Caspr) and Contactin Form a Complex That Is Targeted to the Paranodal Junctions during Myelination ». *The Journal of Neuroscience* 20(22):8354‑64.

Rispens, Theo, Anna M. Davies, Pleuni Ooijevaar-de Heer, Samira Absalah, Onno Bende, Brian J. Sutton, Gestur Vidarsson, et Rob C. Aalberse. 2014. « Dynamics of Inter-Heavy Chain Interactions in Human Immunoglobulin G (IgG) Subclasses Studied by Kinetic Fab Arm Exchange ». *The Journal of Biological Chemistry* 289(9):6098‑6109.

Rispens, Theo, Joyce Meesters, Tamara H. den Bleker, Pleuni Ooijevaar-De Heer, Janine Schuurman, Paul W. H. I. Parren, Aran Labrijn, et Rob C. Aalberse. 2013. « Fc-Fc Interactions of Human IgG4 Require Dissociation of Heavy Chains and Are Formed Predominantly by the Intra-Chain Hinge Isomer ». *Molecular Immunology* 53(1‑2):35‑42.

Rispens, Theo, Pleuni Ooievaar-De Heer, Ellen Vermeulen, Janine Schuurman, Marijn van der Neut Kolfschoten, et Rob C. Aalberse. 2009. « Human IgG4 Binds to IgG4 and Conformationally Altered IgG1 via Fc-Fc Interactions ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 182(7):4275‑81.

Rispens, Theo, Pleuni Ooijevaar-de Heer, Onno Bende, et Rob C. Aalberse. 2011. « Mechanism of Immunoglobulin G4 Fab-Arm Exchange ». *Journal of the American Chemical Society* 133(26):10302‑11.

Rock, Barbara, Ciro R. Martins, Argyrios N. Theofilopoulos, Robert S. Balderas, Grant J. Anhalt, Ramzy S. Labib, Shozo Futamura, Evandro A. Rivitti, et Luis A. Diaz. 1989. « The Pathogenic Effect of IgG4 Autoantibodies in Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem) ». *New England Journal of Medicine* 320(22):1463‑69.

Röth, Alexander, Scott T. Rottinghaus, Anita Hill, Eric S. Bachman, Jin Seok Kim, Hubert Schrezenmeier, Louis Terriou, Álvaro Urbano-Ispizua, Richard A. Wells, Jun Ho Jang, Austin G. Kulasekararaj, Jeff Szer, Rasha Aguzzi, Andrew I. Damokosh, Lori Shafner, et Jong Wook Lee. 2018. « Ravulizumab (ALXN1210) in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Results of 2 Phase 1b/2 Studies ». *Blood Advances* 2(17):2176‑85.

Rother, Russell P., Scott A. Rollins, Christopher F. Mojcik, Robert A. Brodsky, et Leonard Bell. 2007. « Discovery and Development of the Complement Inhibitor Eculizumab for the Treatment of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria ». *Nature Biotechnology* 25(11):1256‑64.

Saeki, Takako, Shinichi Nishi, Naofumi Imai, Tomoyuki Ito, Hajime Yamazaki, Mitsuhiro Kawano, Motohisa Yamamoto, Hiroki Takahashi, Shoko Matsui, Shinji Nakada, Tomoki Origuchi, Akira Hirabayashi, Noriyuki Homma, Yutaka Tsubata, Takuma Takata, Yoko Wada, Akihiko Saito, Sachiko Fukase, Kunihiro Ishioka, Kana Miyazaki, Yasufumi Masaki, Hisanori Umehara, Susumu Sugai, et Ichiei Narita. 2010. « Clinicopathological Characteristics of Patients with IgG4-Related Tubulointerstitial Nephritis ». *Kidney International* 78(10):1016‑23.

Saito, Masataka, Sara N. Stahley, Christopher Y. Caughman, Xuming Mao, Dana K. Tucker, Aimee S. Payne, Masayuki Amagai, et Andrew P. Kowalczyk. 2012. « Signaling Dependent and Independent Mechanisms in Pemphigus Vulgaris Blister Formation ». *PLoS ONE* 7(12).

Sanofi US. 2019. « Mechanism of Action | DUPIXENT® (Dupilumab) ». *Atopicdermatitis*. Consulté 16 août 2019 (https://www.dupixenthcp.com/atopicdermatitis/about/mechanism-of-action).

Sapin, R. 2008. « Interférences dans les immunodosages : mécanismes et conséquences en endocrinologie ». *Annales d'Endocrinologie* 69(5):415‑25.

Sarma, J. Vidya et Peter A. Ward. 2011. « The Complement System ». *Cell and Tissue Research* 343(1):227‑35.

Sato, Yasuharu, Koh-ichi Ohshima, Kouichi Ichimura, Masakazu Sato, Ichiro Yamadori, Takehiro Tanaka, Katsuyoshi Takata, Toshiaki Morito, Eisaku Kondo, et Tadashi Yoshino. 2008. « Ocular Adnexal IgG4-Related Disease Has Uniform Clinicopathology ». *Pathology International* 58(8):465‑70.

Satoguina, Judith S., Esther Weyand, John Larbi, et Achim Hoerauf. 2005. « T Regulatory-1 Cells Induce IgG4 Production by B Cells: Role of IL-10 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 174(8):4718‑26.

Schaller, Monica, Monique Vogel, Karim Kentouche, Bernhard Lämmle, et Johanna A. Kremer Hovinga. 2014. « The Splenic Autoimmune Response to ADAMTS13 in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Contains Recurrent Antigen-Binding CDR3 Motifs ». *Blood* 124(23):3469‑79.

Schumaker, V. N., M. A. Calcott, H. L. Spiegelberg, et H. J. Müller-Eberhard. 1976. « Ultracentifuge Studies of the Binding of IgG of Different Subclasses to the Clq Subunit of the First Component of Complement ». *Biochemistry* 15(23):5175‑81.

Schuurman, J., G. J. Perdok, G. A. Mueller, D. C. Benjamin, K. Yong Tan, M. D. Chapman, et R. C. Aalberse. 1997. « Mouse/Human Chimeric IgG1 and IgG4 Antibodies Directed to the House Dust Mite Allergen Der p 2: Use in Quantification of Allergen Specific IgG ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 27(9):1095‑1102.

Schuurman, J., R. Van Ree, G. J. Perdok, H. R. Van Doorn, K. Y. Tan, et R. C. Aalberse. 1999. « Normal Human Immunoglobulin G4 Is Bispecific: It Has Two Different Antigen-Combining Sites ». *Immunology* 97(4):693‑98.

Schwaegerle, S. M., T. W. Bauer, et C. B. Esselstyn. 1988. « Riedel's Thyroiditis ». *American Journal of Clinical Pathology* 90(6):715‑22.

Scully, Crispian. 2014. « Autoimmune Disease ». P. 466‑80 in *Scully's Medical Problems in Dentistry*. Elsevier.

Sekulic, Miroslav, Simona Pichler Sekulic, et Saeid Movahedi-Lankarani. 2017. « IgG4-Related Disease of the Ovary: A First Description ». *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists* 36(2):190‑94.

Service d'immunologie, Faculté de Pharmacie de Lille. 2018a. « Pembrolizumab (KEYTRUDA®) [Guide des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique - Mars 2018] ». Consulté 16 août 2019 (http://moodle.univ-lille2.fr/pluginfile.php/286158/mod_resource/content/11/co/Pembrolizumab___KEYTRUDAJ_.html).

Service d'immunologie, Faculté de Pharmacie de Lille. 2018b. « Reslizumab (CINQAERO®) [Guide des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique - Mars 2018] ». Consulté 16 août 2019 (http://moodle.univ-lille2.fr/pluginfile.php/286158/mod_resource/content/11/co/Reslizumab__CINQAEROJ_.html).

Shapiro, Renée I., Tatiana Plavina, Brian R. Schlain, R. Blake Pepinsky, Ellen A. Garber, Matthew Jarpe, Paula S. Hochman, Nancy G. Wehner, Frederique Bard, Ruth Motter, Ted A. Yednock, et Frederick R. Taylor. 2011. « Development and Validation of Immunoassays to

Quantify the Half-Antibody Exchange of an IgG4 Antibody, Natalizumab (Tysabri®) with Endogenous IgG4 ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 55(1):168‑75.

Sheffield Teaching Hopital NHS. 2019. « UK NEQAS for Immunology, Immunochemistry and Allergy ». Consulté 20 août 2019 (https://www.immqas.org.uk/Default.asp?ID=308).

Sheridan, Douglas, Zhao-Xue Yu, Yuchun Zhang, Rekha Patel, Fang Sun, Melissa A. Lasaro, Keith Bouchard, Bruce Andrien, Andre Marozsan, Yi Wang, et Paul Tamburini. 2018. « Design and Preclinical Characterization of ALXN1210: A Novel Anti-C5 Antibody with Extended Duration of Action » édité par S. Stepkowski. *PLOS ONE* 13(4):e0195909.

Shimatsu, Akira, Yutaka Oki, Ichiro Fujisawa, et Toshiaki Sano. 2009. « Pituitary and Stalk Lesions (Infundibulo-Hypophysitis) Associated with Immunoglobulin G4-Related Systemic Disease: An Emerging Clinical Entity ». *Endocrine Journal* 56(9):1033‑41.

Shimosegawa, Tooru et Atsushi Kanno. 2009. « Autoimmune Pancreatitis in Japan: Overview and Perspective ». *Journal of Gastroenterology* 44(6):503‑17.

Shiokawa, Masahiro, Yuzo Kodama, Kiyotoshi Sekiguchi, Takeshi Kuwada, Teruko Tomono, Katsutoshi Kuriyama, Hajime Yamazaki, Toshihiro Morita, Saiko Marui, Yuko Sogabe, Nobuyuki Kakiuchi, Tomoaki Matsumori, Atsushi Mima, Yoshihiro Nishikawa, Tatsuki Ueda, Motoyuki Tsuda, Yuki Yamauchi, Yojiro Sakuma, Takahisa Maruno, Norimitsu Uza, Tatsuaki Tsuruyama, Tsuneyo Mimori, Hiroshi Seno, et Tsutomu Chiba. 2018. « Laminin 511 Is a Target Antigen in Autoimmune Pancreatitis ». *Science Translational Medicine* 10(453).

Shirakashi, Mirei, Hajime Yoshifuji, Yuzo Kodama, Tsutomu Chiba, Motohisa Yamamoto, Hiroki Takahashi, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki, Tetsuya Ito, Shigeyuki Kawa, Kazunori Yamada, Mitsuhiro Kawano, Shintaro Hirata, Yoshiya Tanaka, Masafumi Moriyama, Seiji Nakamura, Terumi Kamisawa, Shoko Matsui, Hiroto Tsuboi, Takayuki Sumida, Motoko Shibata, Hiroshi Goto, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino, et Tsuneyo Mimori. 2018. « Factors in Glucocorticoid Regimens Associated with Treatment Response and Relapses of IgG4-Related Disease: A Multicentre Study ». *Scientific Reports* 8(1):10262.

Shire, Steven J., Zahra Shahrokh, et Jun Liu. 2004. « Challenges in the Development of High Protein Concentration Formulations ». *Journal of Pharmaceutical Sciences* 93(6):1390‑1402.

Shirley, Matt. 2017. « Dupilumab: First Global Approval ». *Drugs* 77(10):1115‑21.

Shrestha, Bijayee, Hiroshi Sekiguchi, Thomas V. Colby, Paolo Graziano, Marie-Christine Aubry, Thomas C. Smyrk, Andrew L. Feldman, Lynn D. Cornell, Jay H. Ryu, Suresh T. Chari, Amylou C. Dueck, et Eunhee S. Yi. 2009. « Distinctive Pulmonary Histopathology with Increased IgG4-Positive Plasma Cells in Patients with Autoimmune Pancreatitis: Report of 6 and 12 Cases with Similar Histopathology ». *The American Journal of Surgical Pathology* 33(10):1450‑62.

Smerla, Roubini G., Dimitra Rontogianni, et George E. Fragoulis. 2018. « Ocular Manifestations of IgG4-Related Disease in Children. More Common than Anticipated? Review of the Literature and Case Report ». *Clinical Rheumatology* 37(6):1721‑27.

Smyrk, Thomas C. 2011. « Pathological Features of IgG4-Related Sclerosing Disease ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):74‑79.

Spindler, Volker, Rüdiger Eming, Enno Schmidt, Masayuki Amagai, Sergei Grando, Marcel F. Jonkman, Andrew P. Kowalczyk, Eliane J. Müller, Aimee S. Payne, Carlo Pincelli, Animesh A. Sinha, Eli Sprecher, Detlef Zillikens, Michael Hertl, et Jens Waschke. 2018. « Mechanisms Causing Loss of Keratinocyte Cohesion in Pemphigus ». *Journal of Investigative Dermatology* 138(1):32‑37.

Stan, Marius N., Vikram Sonawane, Thomas J. Sebo, Prabin Thapa, et Rebecca S. Bahn. 2017. « Riedel's Thyroiditis Association with IgG4-Related Disease ». *Clinical Endocrinology* 86(3):425‑30.

Steinke, John W. et Larry Borish. 2001. « Th2 Cytokines and Asthma Interleukin-4: Its Role in the Pathogenesis of Asthma, and Targeting It for Asthma Treatment with Interleukin-4 Receptor Antagonists ». 2(2):5.

Stone, J. H. 2018. « ACR and EULAR Draft Classification Criteria for IgG4-Related Disease ». Consulté 31 juillet 2019 (https://www.mdedge.com/rheumatology/article/178958/lupus-connective-tissue-diseases/acr-and-eular-draft-classification).

Stone, James R. 2011. « Aortitis, Periaortitis, and Retroperitoneal Fibrosis, as Manifestations of IgG4-Related Systemic Disease ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):88‑94.

Stone, James R., Patrick Bruneval, Annalisa Angelini, Giovanni Bartoloni, Cristina Basso, Lubov Batoroeva, L. Maximilian Buja, Jagdish Butany, Giulia d'Amati, John T. Fallon, Adriana C. Gittenberger-de Groot, Rosa H. Gouveia, Marc K. Halushka, Karen L. Kelly, Ivana Kholova, Ornella Leone, Silvio H. Litovsky, Joseph J. Maleszewski, Dylan V. Miller, Richard N. Mitchell, Stephen D. Preston, Angela Pucci, Stanley J. Radio, E. Rene Rodriguez, Mary N. Sheppard, S. Kim Suvarna, Carmela D. Tan, Gaetano Thiene, Allard C. van der Wal, et John P. Veinot. 2015. « Consensus Statement on Surgical Pathology of the Aorta from the Society for Cardiovascular Pathology and the Association for European Cardiovascular Pathology: I. Inflammatory Diseases ». *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 24(5):267‑78.

Stone, John H. 2012. « IgG4-Related Disease: Nomenclature, Clinical Features, and Treatment ». *Seminars in Diagnostic Pathology* 29(4):177‑90.

Stone, John H. 2013. « IgG4: A Tantalizing Link between Causes of Membranous Glomerulonephritis and Systemic Disease ». *Kidney International* 83(3):348‑50.

Stone, John H., Arezou Khosroshahi, Vikram Deshpande, John K. C. Chan, J. Godfrey Heathcote, Rob Aalberse, Atsushi Azumi, Donald B. Bloch, William R. Brugge, Mollie N. Carruthers, Wah Cheuk, Lynn Cornell, Carlos Fernandez-Del Castillo, Judith A. Ferry, David Forcione, Günter Klöppel, Daniel L. Hamilos, Terumi Kamisawa, Satomi Kasashima, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano, Yasufumi Masaki, Kenji Notohara, Kazuichi Okazaki, Ji Kon Ryu, Takako Saeki, Dushyant Sahani, Yasuharu Sato, Thomas Smyrk, James R. Stone, Masayuki Takahira, Hisanori Umehara, George Webster, Motohisa Yamamoto, Eunhee Yi, Tadashi Yoshino, Giuseppe Zamboni, Yoh Zen, et Suresh Chari. 2012. « Recommendations for the Nomenclature of IgG4-Related Disease and Its Individual Organ System Manifestations ». *Arthritis and Rheumatism* 64(10):3061‑67.

Stone, John H., Arezou Khosroshahi, Vikram Deshpande, et James R. Stone. 2010. « IgG4-Related Systemic Disease Accounts for a Significant Proportion of Thoracic Lymphoplasmacytic Aortitis Cases ». *Arthritis Care & Research* 62(3):316‑22.

Stone, John H., Yoh Zen, et Vikram Deshpande. 2012. « IgG4-Related Disease ». *The New England Journal of Medicine* 366(6):539‑51.

Su, K., J. Wu, J. C. Edberg, S. E. McKenzie, et R. P. Kimberly. 2002. « Genomic Organization of Classical Human

Low-Affinity Fcgamma Receptor Genes ». *Genes and Immunity* 3 Suppl 1:S51-56.

Sugimoto, Toshiro, Yoshikata Morita, Keiji Isshiki, Takashi Yamamoto, Takashi Uzu, Atsunori Kashiwagi, Minoru Horie, et Tohru Asai. 2008. « Constrictive Pericarditis as an Emerging Manifestation of Hyper-IgG4 Disease ». *International Journal of Cardiology* 130(3):e100-101.

Sun, Ming, Yue Li, Huiwen Zheng, et Yiming Shao. 2016. « Recent Progress toward Engineering HIV-1-Specific Neutralizing Monoclonal Antibodies ». *Frontiers in Immunology* 7.

Sutton, Brian, Adam Corper, Vincent Bonagura, et Michael Taussig. 2000. « The structure and origin of rheumatoid factors ». *Immunology Today* 21(4):177‑83.

Tabata, Taku, Terumi Kamisawa, Seiichi Hara, Sawako Kuruma, Kazuro Chiba, Go Kuwata, Takashi Fujiwara, Hideto Egashira, Koichi Koizumi, Junko Fujiwara, Takeo Arakawa, Kumiko Momma, Masanao Kurata, Goro Honda, Koji Tsuruta, et Takao Itoi. 2013. « Differentiating Immunoglobulin G4-Related Sclerosing Cholangitis from Hilar Cholangiocarcinoma ». *Gut and Liver* 7(2):234‑38.

Takai, Toshiyuki. 2002. « Roles of Fc Receptors in Autoimmunity ». *Nature Reviews Immunology* 2(8):580‑92.

Takeshima, Ken, Hidefumi Inaba, Hiroyuki Ariyasu, Yasushi Furukawa, Asako Doi, Masahiro Nishi, Mitsuyoshi Hirokawa, Akira Yoshida, Ryoukichi Imai, et Takashi Akamizu. 2015. « Clinicopathological Features of Riedel's Thyroiditis Associated with IgG4-Related Disease in Japan ». *Endocrine Journal* 62(8):725‑31.

Takuma, Kensuke, Terumi Kamisawa, et Yoshinori Igarashi. 2011. « Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Sclerosing Cholangitis ». *Current Opinion in Rheumatology* 23(1):80‑87.

Tao, M. H., R. I. Smith, et S. L. Morrison. 1993. « Structural Features of Human Immunoglobulin G That Determine Isotype-Specific Differences in Complement Activation ». *The Journal of Experimental Medicine* 178(2):661‑67.

Thermo Fisher Scientific Inc. 2012. « Principe du test ImmunoCAP Specific IgE - Phadia - Setting the Standard - Phadia.com ». Consulté 16 août 2019 (http://www.phadia.com/fr/5/Produits/Dosages/1/Principe-du-test-ImmunoCAP-SpecificIgE/).

Thomas, Mari R., Rens de Groot, Marie A. Scully, et James T. B. Crawley. 2015. « Pathogenicity of Anti-ADAMTS13 Autoantibodies in Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura ». *EBioMedicine* 2(8):942‑52.

Tomas, Nicola M., Laurence H. Beck, Catherine Meyer-Schwesinger, Barbara Seitz-Polski, Hong Ma, Gunther Zahner, Guillaume Dolla, Elion Hoxha, Udo Helmchen, Anne-Sophie Dabert-Gay, Delphine Debayle, Michael Merchant, Jon Klein, David J. Salant, Rolf A. K. Stahl, et Gérard Lambeau. 2014. « Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A in Idiopathic Membranous Nephropathy ». *The New England Journal of Medicine* 371(24):2277‑87.

Tomas, Nicola M., Elion Hoxha, Anna T. Reinicke, Lars Fester, Udo Helmchen, Jens Gerth, Friederike Bachmann, Klemens Budde, Friedrich Koch-Nolte, Gunther Zahner, Gabriele Rune, Gerard Lambeau, Catherine Meyer-Schwesinger, et Rolf A. K. Stahl. 2016. « Autoantibodies against Thrombospondin Type 1 Domain-Containing 7A Induce Membranous Nephropathy ». *The Journal of Clinical Investigation* 126(7):2519‑32.

Toussirot, Eric. 2018. « Ixekizumab: an anti- IL-17A monoclonal antibody for the treatment of psoriatic arthritis ». *Expert Opinion on Biological Therapy* 18(1):101‑7.

Trampert, David C., Lowiek M. Hubers, Stan F. J. van de Graaf, et Ulrich Beuers. 2018. « On the Role of IgG4 in Inflammatory Conditions: Lessons for IgG4-Related Disease ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1864(4):1401‑9.

Tsai, Han-Mou et Eric Chun-Yet Lian. 1998. « ANTIBODIES TO VON WILLEBRAND FACTOR–CLEAVING PROTEASE IN ACUTE THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA ». *The New England journal of medicine* 339(22):1585‑94.

Tsunoda, Kazuyuki, Takayuki Ota, Miyo Aoki, Taketo Yamada, Tetsuo Nagai, Taneaki Nakagawa, Shigeo Koyasu, Takeji Nishikawa, et Masayuki Amagai. 2003. « Induction of Pemphigus Phenotype by a Mouse Monoclonal Antibody Against the Amino-Terminal Adhesive Interface of Desmoglein 3 ». *The Journal of Immunology* 170(4):2170‑78.

Uehara, Takeshi, Hideaki Hamano, Shigeyuki Kawa, Kenji Sano, Keiko Oki, Yukihiro Kobayashi, Tadanobu Nagaya, Taiji Akamatsu, Masahiro Kurozumi, Yasunori Fujinaga, Eiji Tanaka, Takayuki Honda, et Hiroyoshi Ota. 2010. « Chronic Gastritis in the Setting of Autoimmune Pancreatitis ». *The American Journal of Surgical Pathology* 34(9):1241‑49.

Umehara, Hisanori, Kazuichi Okazaki, Yasufumi Masaki, Mitsuhiro Kawano, Motohisa Yamamoto, Takako Saeki, Shoko Matsui, Takayuki Sumida, Tsuneyo Mimori, Yoshiya Tanaka, Kazuo Tsubota, Tadashi Yoshino, Shigeyuki Kawa, Ritsuro Suzuki, Tsutomu Takegami, Naohisa Tomosugi, Nozomu Kurose, Yasuhito Ishigaki, Atsushi Azumi, Masaru Kojima, Shigeo Nakamura, et Dai Inoue. 2012. « A Novel Clinical Entity, IgG4-Related Disease (IgG4RD): General Concept and Details ». *Modern Rheumatology* 22(1):1‑14.

Umehara, Hisanori, Kazuichi Okazaki, Yasufumi Masaki, Mitsuhiro Kawano, Motohisa Yamamoto, Takako Saeki, Shoko Matsui, Tadashi Yoshino, Shigeo Nakamura, Shigeyuki Kawa, Hideaki Hamano, Terumi Kamisawa, Toru Shimosegawa, Akira Shimatsu, Seiji Nakamura, Tetsuhide Ito, Kenji Notohara, Takayuki Sumida, Yoshiya Tanaka, Tsuneyo Mimori, Tsutomu Chiba, Michiaki Mishima, Toshifumi Hibi, Hirohito Tsubouchi, Kazuo Inui, et Hirotaka Ohara. 2012. « Comprehensive Diagnostic Criteria for IgG4-Related Disease (IgG4-RD), 2011 ». *Modern Rheumatology* 22(1):21‑30.

Umemura, T., Y. Zen, H. Hamano, T. Ichijo, S. Kawa, Y. Nakanuma, et K. Kiyosawa. 2007. « IgG4 Associated Autoimmune Hepatitis: A Differential Diagnosis for Classical Autoimmune Hepatitis ». *Gut* 56(10):1471‑72.

Varga, Eva-Maria, Fahima Kausar, Werner Aberer, Maximilian Zach, Ernst Eber, Stephen R. Durham, et Mohamed H. Shamji. 2013. « Tolerant beekeepers display venom-specific functional IgG4 antibodies in the absence of specific IgE ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 131(5):1419‑21.

Vatrella, Alessandro, Immacolata Fabozzi, Cecilia Calabrese, Rosario Maselli, et Girolamo Pelaia. 2014. « Dupilumab: A Novel Treatment for Asthma ». *Journal of Asthma and Allergy* 123.

van de Veen, Willem, Barbara Stanic, Görkem Yaman, Marcin Wawrzyniak, Stefan Söllner, Deniz G. Akdis, Beate Rückert, Cezmi A. Akdis, et Mübeccel Akdis. 2013. « IgG4 Production Is Confined to Human IL-10-Producing Regulatory B Cells That Suppress Antigen-Specific Immune Responses ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 131(4):1204‑12.

Vercelli, Donata, Lucia De Monte, Silvia Monticelli, Chiara Di Bartolo, et Alessandra Agresti. 1998. « To E or Not to E?Can an IL-4-Induced B Cell Choose between IgE and IgG4? » *International Archives of Allergy and Immunology* 116(1):1‑4.

Vermeersch, S., R. J. Benschop, A. Van Hecken, D. Monteith, V. J. Wroblewski, D. Grayzel, J. de Hoon, et E. C. Collins. 2015. « Translational Pharmacodynamics of Calcitonin Gene-Related Peptide Monoclonal Antibody LY2951742 in a Capsaicin-Induced Dermal Blood Flow Model ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 354(3):350‑57.

Vetter, R. S. et P. K. Visscher. 1998. « Bites and Stings of Medically Important Venomous Arthropods ». *International Journal of Dermatology* 37(7):481‑96.

Vidarsson, Gestur, Gillian Dekkers, et Theo Rispens. 2014. « IgG Subclasses and Allotypes: From Structure to Effector Functions ». *Frontiers in Immunology* 5.

Vitte, Joana, Stéphane Ranque, Ania Carsin, Carine Gomez, Thomas Romain, Carole Cassagne, Marion Gouitaa, Mélisande Baravalle-Einaudi, Nathalie Stremler-Le Bel, Martine Reynaud-Gaubert, Jean-Christophe Dubus, Jean-Louis Mège, et Jean Gaudart. 2017. « Multivariate Analysis As a Support for Diagnostic Flowcharts in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Proof-of-Concept Study ». *Frontiers in Immunology* 8:1019.

Vlachou, Paraskevi A., Korosh Khalili, Hyun-Jung Jang, Sandra Fischer, Gideon M. Hirschfield, et Tae Kyoung Kim. 2011. « IgG4-related Sclerosing Disease: Autoimmune Pancreatitis and Extrapancreatic Manifestations ». *RadioGraphics* 31(5):1379‑1402.

Voorberg, Jan. 2015. « Disappearing Acts of ADAMTS13 ». 2.

Wallace, Zachary S., Vikram Deshpande, Hamid Mattoo, Vinay S. Mahajan, Maria Kulikova, Shiv Pillai, et John H. Stone. 2015. « IgG4-Related Disease: Clinical and Laboratory Features in One Hundred Twenty-Five Patients: CLINICAL AND LABORATORY FEATURES OF IgG4-RELATED DISEASE ». *Arthritis & Rheumatology* 67(9):2466‑75.

Wallace, Zachary S., Vikram Deshpande, et John H. Stone. 2014. « Ophthalmic Manifestations of IgG4-Related Disease: Single-Center Experience and Literature Review ». *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 43(6):806‑17.

Wallace, Zachary S., Arezou Khosroshahi, Mollie D. Carruthers, Cory A. Perugino, Hyon Choi, Corrado Campochiaro, Emma L. Culver, Frank Cortazar, Emanuel Della-Torre, Mikael Ebbo, Ana Fernandes, Luca Frulloni, Phil A. Hart, Omer Karadag, Shigeyuki Kawa, Mitsuhiro Kawano, Myung-Hwan Kim, Marco Lanzillotta, Shoko Matsui, Kazuichi Okazaki, Jay H. Ryu, Takako Saeki, Nicolas Schleinitz, Paula Tanasa, Hisanori Umehara, George Webster, Wen Zhang, et John H. Stone. 2018. « An International Multispecialty Validation Study of the IgG4-Related Disease Responder Index ». *Arthritis Care & Research* 70(11):1671‑78.

Wallace, Zachary S., Hamid Mattoo, Mollie Carruthers, Vinay S. Mahajan, Emanuel Della Torre, Hang Lee, Maria Kulikova, Vikram Deshpande, Shiv Pillai, et John H. Stone. 2015. « Plasmablasts as a Biomarker for IgG4-Related Disease, Independent of Serum IgG4 Concentrations ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 74(1):190‑95.

Wallace, Zachary S., Yuqing Zhang, Cory A. Perugino, Ray Naden, Hyon K. Choi, et John H. Stone. 2019. « Clinical Phenotypes of IgG4-Related Disease: An Analysis of Two International Cross-Sectional Cohorts ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 78(3):406‑12.

Wang, Liwen, Panpan Zhang, Mu Wang, Ruie Feng, Yamin Lai, Linyi Peng, Yunyun Fei, Xuan Zhang, Yan Zhao, Xiaofeng Zeng, Fengchun Zhang, et Wen Zhang. 2018. « Failure of Remission Induction by Glucocorticoids Alone or in Combination with Immunosuppressive Agents in IgG4-Related Disease: A Prospective Study of 215 Patients ». *Arthritis Research & Therapy* 20(1):65.

Wang, Liwen, Panpan Zhang, Xia Zhang, Wei Lin, Hanqi Tang, Jieqiong Li, Mu Wang, Xiaowei Liu, Yunyun Fei, Hua Chen, Linyi Peng, Li Zhang, Yamin Lai, Xuejun Zeng, Xuemei Li, Huadan Xue, Yan Zhao, Fengchun Zhang, et Wen Zhang. 2019. « Sex Disparities in Clinical Characteristics and Prognosis of Immunoglobulin G4–Related Disease: A Prospective Study of 403 Patients ». *Rheumatology* 58(5):820‑30.

Warfvinge, Karin et Lars Edvinsson. 2013. « Pearls and Pitfalls in Neural CGRP Immunohistochemistry ». *Cephalalgia* 33(8):593‑603.

Watson, Simon J. W., David A. S. Jenkins, et Christopher O. S. Bellamy. 2006. « Nephropathy in IgG4-Related Systemic Disease ». *The American Journal of Surgical Pathology* 30(11):1472‑77.

Weindorf, Steven C. et John Karl Frederiksen. 2017. « IgG4-Related Disease: A Reminder for Practicing Pathologists ». *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 141(11):1476‑83.

Wijnsma, Kioa L., Caroline Duineveld, Jack F. M. Wetzels, et Nicole C. A. J. van de Kar. 2018. « Eculizumab in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: Strategies toward Restrictive Use ». *Pediatric Nephrology*.

Wilson, Calum, Rosemary Ebling, Clara Henig, Tanya Adler, Roza Nicolaevski, Mira Barak, John Cazabon, Diane Maisin, Thibault Lepoutre, Damien Gruson, Richard G. Hughes, et Antony R. Parker. 2013. « Significant, quantifiable differences exist between IgG subclass standards WHO67/97 and ERM-DA470k and can result in different interpretation of results ». *Clinical Biochemistry* 46(16):1751‑55.

Wood, Nancy, Karen Bourque, Debra D. Donaldson, Mary Collins, Donata Vercelli, Samuel J. Goldman, et Marion T. Kasaian. 2004. « IL-21 Effects on Human IgE Production in Response to IL-4 or IL-13 ». *Cellular Immunology* 231(1‑2):133‑45.

Wu, Albert, Nicholas H. Andrew, Alan A. McNab, et Dinesh Selva. 2015. « IgG4-Related Ophthalmic Disease: Pooling of Published Cases and Literature Review ». *Current Allergy and Asthma Reports* 15(6):27.

Xu, Y., R. Oomen, et M. H. Klein. 1994. « Residue at Position 331 in the IgG1 and IgG4 CH2 Domains Contributes to Their Differential Ability to Bind and Activate Complement ». *The Journal of Biological Chemistry* 269(5):3469‑74.

Xu, Zhenming, Hong Zan, Egest J. Pone, Thach Mai, et Paolo Casali. 2012. « Immunoglobulin Class-Switch DNA Recombination: Induction, Targeting and Beyond ». *Nature Reviews Immunology* 12(7):517‑31.

Yamaguchi, Yutaka, Yukiko Kanetsuna, Kazuho Honda, Nobuaki Yamanaka, Mitsuhiro Kawano, Michio Nagata, et Japanese study group on IgG4-related nephropathy. 2012. « Characteristic Tubulointerstitial Nephritis in IgG4-Related Disease ». *Human Pathology* 43(4):536‑49.

Yamamoto, M., M. Nojima, H. Takahashi, Y. Yokoyama, K. Ishigami, H. Yajima, Y. Shimizu, T. Tabeya, M. Matsui, C. Suzuki, Y. Naishiro, K. -i. Takano, T. Himi, K. Imai, et Y. Shinomura. 2015. « Identification of Relapse Predictors in IgG4-Related Disease Using Multivariate Analysis of Clinical Data at the First Visit and Initial Treatment ». *Rheumatology* 54(1):45‑49.

Yamamoto, Motohisa, Hiroki Takahashi, Keisuke Ishigami, Hidetaka Yajima, Yui Shimizu, Tetsuya Tabeya, Mikiko Matsui, Chisako Suzuki, Yasuyoshi Naishiro, Kohzoh Imai, et Yasuhisa Shinomura. 2012. « Relapse

Patterns in IgG4-Related Disease: Table 1 ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 71(10):1755‑1755.

Yang, Yang, Chao Wang, Liping Jin, Fagui He, Changchun Li, Qingman Gao, Guanglei Chen, Zhijun He, Minghui Song, Zhuliang Zhou, Fujun Shan, Ka Qi, et Lu Ma. 2016. « IgG4 Anti-Phospholipase A2 Receptor Might Activate Lectin and Alternative Complement Pathway Meanwhile in Idiopathic Membranous Nephropathy: An Inspiration from a Cross-Sectional Study ». *Immunologic Research* 64(4):919‑30.

Yanoff, Myron et Joseph W. Sassani. 2015. « Orbit ». P. 467-525.e9 in *Ocular Pathology*. Elsevier.

Young, Elizabeth, Emma Lock, Douglas G. Ward, Alexander Cook, Stephen Harding, et Gregg L. F. Wallis. 2014. « Estimation of Polyclonal IgG4 Hybrids in Normal Human Serum ». *Immunology* 142(3):406‑13.

Zack, D. J., M. Stempniak, A. L. Wong, et R. H. Weisbart. 1995. « Localization of an Fc-Binding Reactivity to the Constant Region of Human IgG4. Implications for the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 155(10):5057‑63.

van der Zee, J. S., P. van Swieten, et R. C. Aalberse. 1986. « Serologic Aspects of IgG4 Antibodies. II. IgG4 Antibodies Form Small, Nonprecipitating Immune Complexes Due to Functional Monovalency ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 137(11):3566‑71.

Zen, Yoh, Takahiko Fujii, Yasunori Sato, Shinji Masuda, et Yasuni Nakanuma. 2007. « Pathological Classification of Hepatic Inflammatory Pseudotumor with Respect to IgG4-Related Disease ». *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 20(8):884‑94.

Zen, Yoh, Dai Inoue, Azusa Kitao, Manabu Onodera, Hitoshi Abo, Shiro Miyayama, Toshifumi Gabata, Osamu Matsui, et Yasuni Nakanuma. 2009. « IgG4-Related Lung and Pleural Disease: A Clinicopathologic Study of 21 Cases ». *The American Journal of Surgical Pathology* 33(12):1886‑93.

Zen, Yoh, Manabu Onodera, Dai Inoue, Azusa Kitao, Osamu Matsui, Takahiro Nohara, Mikio Namiki, Satomi Kasashima, Atsuhiro Kawashima, Yasushi Matsumoto, Kazuyoshi Katayanagi, Tetsuya Murata, Shin Ishizawa, Noriko Hosaka, Ken Kuriki, et Yasuni Nakanuma. 2009. « Retroperitoneal Fibrosis: A Clinicopathologic Study with Respect to Immunoglobulin G4 ». *The American Journal of Surgical Pathology* 33(12):1833‑39.

Zen, Yoh, Aiko Sawazaki, Shiro Miyayama, Kazuo Notsumata, Nobuyoshi Tanaka, et Yasuni Nakanuma. 2006. « A Case of Retroperitoneal and Mediastinal Fibrosis Exhibiting Elevated Levels of IgG4 in the Absence of Sclerosing Pancreatitis (Autoimmune Pancreatitis) ». *Human Pathology* 37(2):239‑43.

Zhang, Pingchuan et Lynn D. Cornell. 2017. « IgG4-Related Tubulointerstitial Nephritis ». *Advances in Chronic Kidney Disease* 24(2):94‑100.

Zhao, Cathy Y., Yi Zhen Chiang, et Dedee F. Murrell. 2016. « Neonatal Autoimmune Blistering Disease: A Systematic Review ». *Pediatric Dermatology* 33(4):367‑74.

Zhu, Jianfeng et Boting Wu. 2015. « Immunoglobulin G4-Positive Plasma Cell Myeloma ». *Blood* 126(19):2254‑2254.

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté et de mes condisciples, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances

- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité

- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession

- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens

- De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Immunoglobulin subclass 4 (IgG4): from Medical Biology to Clinical care

ABSTRACT

Background
IgG4-related disease (IgG4-RD) is usually associated to an increase of serum IgG4 levels greater than 1.35 g/L. The ACR/EULAR IgG4-RD provisional classification criteria were presented at the ACR conference in 2018. The performance of these criteria in a fully non-Asian cohort is unknown.
Aims
Our study aimed to 1) define the migration profile of IgG4; 2) use the provisional ACR/EULAR IgG4-RD classification criteria (AECC) in a cohort of French patients diagnosed for IgG4-RD; 3) study IgG4 levels accuracy in IgG4-RD; 4) compare total IgG results to the sum of IgG subclasses results in clinical samples ; 5) suggest practice guidelines for IgG subclasses prescription.
Methods
Capillary electrophoresis was performed on monoclonal and polyclonal IgG4 samples. From 1st January 2015 to 31th July 2019, 33 IgG4-RD patients were supervised at the University Hospital of Bordeaux. AECC were applied in comparison to the Comprehensive Diagnostic Criteria. IgG4 interference was analysed by the review of 3079 IgG subclasses results.
Results
High IgG4 serum levels lead to β-γ bridging on electrophoresis. The migration profiles varied among monoclonal IgG4. AECC improved IgG4-RD diagnosis. Biopsies of the affected organs are crucial for the diagnosis. The threshold of 1 g/L *of IgG4 was* more accurate than the accepted threshold of 1.35 g/L. IgG4 subclass was involved in significant discrepancies between sIgG and tIgG. IgG4-RD is the main aetiology found in these samples. Practice guidelines and a prescription review algorithm have been established for the physicians and biologists.
Conclusion
A β-γ bridging in electrophoresis must suggest high serum IgG4 levels. AECC can improve IgG4-RD diagnosis. The cut-off value 1 g/L of IgG4 was more accurate in our cohort. Significant discrepancies between sIgG and tIgG are related to IgG4-RD. Practice guidelines for IgG subclass prescription could improve accurate diagnosis and interference identification by physicians and biologists.

KEYWORDS: IgG4 subclass – IgG4 – IgG4-related disease – IgG4-RD – differences – IgG subclasses – practice guidelines – classification criteria

AUTEUR : Guillaume MARTINROCHE

Les Immunoglobulines d'isotype G4 : de la biologie à la clinique

RESUME

Contexte
Les immunoglobulines d'isotype G4 (IgG4) sont impliquées dans de nombreuses pathologies dont la maladie associée aux IgG4 (MAG4) où leur taux est considéré supérieur à 1,35 g/L. Des critères de classification prévisionnels ACR/EULAR (CCAE) pour MAG4 ont été présentés en 2018 mais leur application à une cohorte exclusivement caucasienne n'a pas été publiée.
Objectifs
Les objectifs de notre étude étaient 1) d'étudier le profil de migration électrophorétique des IgG4 (ELP) ; 2) d'appliquer les critères CCAE pour MAG4 à une cohorte de patients français ; 3) d'évaluer la pertinence du taux d'IgG4 dans la MAG4 ; 4) de comparer la somme des sous-classes d'IgG dosées individuellement (IgGs) avec le dosage des IgG totales (IgGt) ; 5) de proposer des recommandations de bon usage du dosage des sous-classes d'IgG.
Méthodes
Les ELP ont été réalisées à partir de sérums hyper-IgG4 monoclonaux et polyclonaux. Les critères CCAE ont été appliqués rétrospectivement à une cohorte de 33 patients suivis pour MAG4 entre 2010 et 2019 au CHU de Bordeaux. La comparaison entre IgGs et IgGt a été évaluée par l'analyse rétrospective de 3079 résultats obtenus entre 2015 et 2019.
Résultats
L'augmentation des IgG4 polyclonales se traduit par un aspect de bloc β-γ à l'ELP. Le profil est variable pour les IgG4 monoclonales. Les critères CCAE ont permis un meilleur diagnostic de certitude de MAG4 : 22/33 soit 67% des patients au lieu de 15/33 soit 45% ($p < 0,05$). Nous avons déterminé qu'un taux d'1 g/L d'IgG4 est plus pertinent. Les IgG4 contribuent aux différences observées entre IgGs et IgGt, d'autant plus que les différences sont importantes. La MAG4 est la principale étiologie retrouvée pour ces échantillons.
Conclusion
Un aspect de bloc β-γ à l'ELP doit faire suggérer une augmentation polyclonale des IgG4. Les critères CCAE permettent d'améliorer le diagnostic de MAG4. Le seuil d'IgG4 à considérer est de 1 g/L. Les différences élevées entre IgGs et IgGt sont principalement liées à la MAG4.

TITRE EN ANGLAIS : Immunoglobulin subclass 4 (IgG4) : from Medical Biology to Clinical care

DISCIPLINE : Biologie Médicale

MOTS-CLES : Immunoglobuline G4 – IgG4 – maladie associée aux IgG4 – IgG4-RD – interférence – sous-classes IgG – recommandations – CDC – ACR/EULAR – critères de classification

Laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique – CHU de Bordeaux – Groupe Hospitalier Pellegrin, Place Amélie Raba-Léon – 33076 BORDEAUX Cedex – France

Directeurs de thèse : Docteur SARRAT Anne & Docteur GORET Julien