



Pathogénicité des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes

Cecile Bergua

► To cite this version:

Cecile Bergua. Pathogénicité des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes. Biologie cellulaire. Normandie Université, 2017. Français. NNT : 2017NORMR067 . tel-01716413

HAL Id: tel-01716413

<https://theses.hal.science/tel-01716413>

Submitted on 23 Feb 2018

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

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

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie (Immunologie)

Préparée au sein de l'Université de Rouen Normandie

Pathogénicité des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes

**Présentée et soutenue par
Cécile BERGUA**

**Thèse soutenue publiquement le 10 novembre 2017
devant le jury composé de**

Mme. Guislaine CARCELAIN	Professeur, Paris, Université Paris Diderot	Présidente
Mme. Rozen LEPANSE	Directeur de recherche, Paris, UPMC Sorbonne Universités	Rapporteur
M. Vincent MOULY	Directeur de recherche, Paris, UPMC Sorbonne Universités	Rapporteur
Mme. Nathalie STREICHENBERGER	Maître de conférences, Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur
M. Laurent DROUOT	Docteur es sciences, Rouen, Normandie Université	Co-encadrant de thèse
M. Olivier BOYER	Professeur, Rouen, Normandie Université	Directeur de thèse

**Thèse dirigée par M. Olivier BOYER et co-encadrée par M. Laurent DROUOT,
laboratoire INSERM U1234**

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr Olivier Boyer pour m'avoir accordé sa confiance dans la réalisation de ce projet, pour sa patience et ses conseils.

Je remercie le Pr Guislaine Carcelain, sans qui je n'aurais pas eu l'opportunité de participer à cette aventure, de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse.

Je remercie le Dr Rozen LePanse et le Dr Vincent Mouly d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse et d'y avoir consacré une partie de leur temps précieux.

Je remercie le Dr Nathalie Streichenberger d'avoir accepté d'être examinatrice de cette thèse.

Je remercie également mon co-encadrant, le Dr Laurent Drouot, pour avoir consacré autant de temps et de professionnalisme à ma formation. Ton calme, ta justesse mais aussi et surtout ton humour ont été de précieux guides au cours de ces 3 ans. Merci à toi, Fabienne et Audrey d'avoir été des relecteurs et conseillers éclairés pour mon manuscrit.

Merci à tous ceux qui ont été impliqués, de près ou de loin dans ce projet : Laetitia, Reynald, Chantal, Rachid, Léa, Laurine B, Laurine L, Gaëtan, Var, Cata, Maud, Céline, Manu, Sarah, Marie P, Isabelle D, Monsieur Jacquot et toute l'équipe du 2^{ème}.

Merci à Christophe, ton optimisme sans faille et ton enthousiasme ont eu quelque-chose de salvateur dans les moments difficiles. Et bien sûr merci de m'avoir donné l'opportunité d'un avenir à Tours !

Un grand merci à celles avec qui je n'ai pas partagé qu'un bureau : Audrey, Maëlle, Hélène, Marie, Camille, Parvin et Marie-Laure...

...et surtout un merci très particulier à Gwladys avec qui j'ai partagé ces 3 ans de doutes, de découvertes, de peines et de rires. Merci de m'avoir accompagnée sur Petit Papa Noël. Merci pour les raccourcis-clavier inutiles. Tout simplement merci d'avoir été là. J'en regretterais presque que tout ça ait une fin !

Merci à l'Expérimentarium et son équipe, Elise, Claire et Claire, pour votre bienveillance, votre positivité et vos encouragements. Merci pour cette sacrée aventure !

Enfin, merci à ma famille et mes amis pour avoir supporté mes angoisses, mes problèmes et mes joies un peu flous, mon absence, mais surtout merci d'avoir toujours été présents et à l'écoute.

Table des matières

ABSTRACT	7
RESUME	8
LISTE DES FIGURES.....	9
LISTE DES TABLEAUX.....	11
ABREVIATIONS.....	12
I- INTRODUCTION	14
A) Le muscle : fonction, structure et régénération	15
1. Structure	15
2. Les différents types de fibre musculaire	17
3. Dégénération et régénération	17
B) Place des myopathies nécrosantes auto-immunes dans les myopathies inflammatoires.....	20
1. Les myopathies inflammatoires auto-immunes (hors myopathies nécrosantes auto-immunes).....	21
1.1. Aspects cliniques et paracliniques	21
1.1.1. Diagnostic clinique	22
1.1.2. Electromyogramme et imagerie par résonnance magnétique	23
1.1.3. Marqueurs biochimiques : enzymes musculaires	24
1.1.4. Caractéristiques histologiques	25
1.2. Les auto-anticorps au cours des myopathies inflammatoires auto- immunes	31
1.2.1. Auto-anticorps associés aux myosites.....	31
1.2.2. Auto-anticorps spécifiques des myosites.....	34
1.2.3. Association d'auto-anticorps au cours des myosites	42
1.3. Facteurs de risque	42

1.4. Un cadre nosologique toujours en évolution	43
2. Myopathies nécrosantes auto-immunes : émergence d'une nouvelle entité	49
2.1. Le muscle au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes	56
2.1.1. Diagnostic clinique et examens complémentaires.....	56
2.1.2. Electromyogramme et imagerie par résonnance magnétique	56
2.1.3. Analyses biochimiques : enzymes musculaires.....	57
2.1.4. Caractéristiques histologiques	57
2.2. Les auto-anticorps spécifiques des myopathies nécrosantes auto-immunes	60
2.2.1. Auto-anticorps anti-SRP	61
2.2.2. Auto-anticorps anti-HMGCR.....	67
2.2.3. Associations avec d'autres auto-anticorps.....	72
2.3. Facteurs de risque associés.....	72
3. Modèles animaux de myosite.....	74
3.1. Modèles spontanés	74
3.2. Modèles induits par régime alimentaire particulier	74
3.3. Modèles infectieux.....	75
3.4. Modèles immunologiques.....	76
3.5. Modèles transgéniques.....	78
C) Pathogénicité des auto-anticorps	81
1. Preuves de la pathogénicité des auto-anticorps	81
2. Mécanismes d'action des auto-anticorps pathogènes.....	83
2.1. Auto-anticorps dirigés contre des cibles extracellulaires	85
2.1.1. Effets médiés par le fragment Fab	85
2.1.2. Effets médiés par le fragment Fc.....	88
2.1.3. Influence de la glycosylation des auto-anticorps.....	92

2.2. Cas particulier des auto-antigènes intracellulaires.....	93
2.2.1. Exposition membranaire conditionnelle des auto-antigènes intracellulaires	94
2.2.2. Pénétration intracellulaire des aAc	95
2.2.3. Effets intracellulaires des auto-anticorps.....	98
3. Pathogénicité des auto-anticorps spécifiques des myosites.....	100
3.1. Preuves directes	100
3.2. Preuves indirectes	101
3.3. Preuves circonstanciées	101
II- OBJECTIFS	103
III- RESULTATS.....	105
A) Pathogénicité <i>in vivo</i> des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR.....	106
B) Paramètres influençant la pathogénicité dans le modèle	137
1. Paramètres liés aux anticorps.....	137
1.1. Influence de la cinétique et de la quantité	137
1.2. Influence de la quantité et du patient	138
1.3. Influence de la cible	139
1.4. Vers une étude des spécificités épitopiques : développement d'un anticorps monoclonal anti-HMGCR.....	140
1.4.1. Obtention des hybridomes.....	141
1.4.2. Criblage.....	141
1.4.3. Caractérisation	143
2. Paramètres liés au receveur	145
2.1. Transfert aux nouveau-nés	145
2.2. Transfert aux souris mâles	145
C) Reconnaissance antigénique des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR.....	146

IV- DISCUSSION	181
A) Rôle pathogène des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes	182
1. Un premier modèle murin, encore perfectible	182
2. Reconnaissance et accessibilité de la cible.....	189
V- CONCLUSION et PERSPECTIVES.....	195
ANNEXE.....	197
BIBLIOGRAPHIE	198

ABSTRACT

Autoimmune myopathies (AIM), classically called myositis or idiopathic inflammatory myopathies, represent a group of diseases characterized by clinical, histopathologic and biologic properties. One of the most notable properties is the presence of autoantibodies (aAb) in approximately 60% of patients. AIM includes five principal entities: dermatomyositis, polymyositis, inclusion body myositis, overlap myositis including the anti-synthetase syndrome and immune-mediated necrotizing myopathies (IMNM). IMNM have recently been individualized among AIM as severe diseases frequently associated with aAb directed against Signal Recognition Particle (SRP) or 3-Hydroxy-3-MethylGlutaryl-CoA Reductase (HMGCR). Since SRP and HMGCR have an intracellular localization, the role of anti-SRP and anti-HMGCR aAb in the pathophysiology of IMNM remains unclear. Anti-SRP and anti-HMGCR aAb were recently shown to be pathogenic to muscle cells *in vitro* but *in vivo* effects remain unknown.

During this thesis, I studied the pathophysiological role of anti-SRP and anti-HMGCR aAb *in vivo* in mice. Passive transfer of IgG purified from plasma of IMNM patients positive for anti-SRP and anti-HMGCR aAb to wild-type mice elicited a muscle weakness. Immune-deficient Rag2^{-/-} mice presented a prolonged muscle deficit, whereas complement component C3 deficient mice had limited signs. Mice injected with anti-SRP⁺ IgG displayed a strong muscle weakness with mild myocytic necrosis. The muscle deficit was milder and histopathologic findings were not always present in mice receiving anti-HMGCR⁺ IgG. This is in accordance with clinical findings in anti-SRP⁺ patients which present a more severe disease than anti-HMGCR⁺ patients. When supplemented with human complement, mice receiving anti-HMGCR⁺ IgG showed a more severe muscle deficit. This supplementation increased the deficit induced by anti-SRP IgG in a milder way. In collaboration with INSERM UMRS974, we showed that the targets SRP and HMGCR can be detected on the surface of myofibres *in vitro*, suggesting that they could be accessible to aAb *in vivo*.

Together, these results demonstrate for the first time the pathogenic role of anti-SRP and anti-HMGCR aAb *in vivo* and the implication of complement, contributing to a progress in the comprehension of MNAI pathophysiology.

RESUME

Les myopathies auto-immunes (MAI), classiquement appelées myosites ou myopathies inflammatoires idiopathiques, représentent un groupe de maladies définies par des caractéristiques cliniques, histopathologiques et biologiques. Une des caractéristiques les plus notables est la présence d'auto-anticorps (aAc) chez environ 60% des patients. Les MAI regroupent : les dermatomyosites, les polymyosites, les myosites à inclusion, les myosites de chevauchement incluant le syndrome des anti-synthétases et les myopathies nécrosantes auto-immunes (MNAI). Les MNAI ont été récemment individualisées parmi les MAI comme des maladies graves fréquemment associées à la présence d'aAc dirigés contre la *Signal Recognition Particle* (SRP) ou la 3-Hydroxy-3-MéthylGlutaryl-CoA Réductase (HMGCR). La localisation de SRP et HMGCR étant intracellulaire, le rôle des aAc dans la physiopathologie des MNAI reste mal compris. La pathogénicité des aAc anti-SRP et anti-HMGCR envers des cellules musculaires cultivées *in vitro* a récemment été mise en évidence mais leurs effets *in vivo* demeurent inconnus.

Au cours de cette thèse, j'ai étudié le rôle physiopathologique des aAc anti-SRP et anti-HMGCR *in vivo* chez la souris. Le transfert passif d'IgG de patients atteints de MNAI, positifs pour les aAc anti-SRP ou anti-HMGCR, à la souris sauvage entraîne un déficit musculaire. Ce déficit était prolongé chez la souris immunodéficiente Rag2^{-/-}, et limité chez la souris déficiente pour la fraction C3 du complément. Chez les souris recevant les IgG anti-SRP⁺, le déficit musculaire était important et accompagné de quelques signes de nécrose myocytaire. Les IgG anti-HMGCR⁺ induisaient une faiblesse musculaire moindre, et des signes histopathologiques rares ou absents. Ces résultats sont en accord avec l'observation chez l'homme d'une maladie plus grave chez les patients anti-SRP⁺ par rapport aux patients anti-HMGCR⁺. La supplémentation en complément humain des souris augmentait le déficit musculaire induit par les IgG anti-HMGCR⁺ et de façon moindre pour les IgG anti-SRP⁺. En collaboration avec l'INSERM UMRS974, nous avons montré que les cibles SRP et HMGCR peuvent être détectées à la surface des fibres musculaires *in vitro*, suggérant qu'elles puissent être accessibles aux aAc *in vivo*.

Ces résultats démontrent pour la première fois le rôle pathogène des aAc anti-SRP et anti-HMGCR *in vivo* et l'implication du complément, contribuant à une avancée dans la compréhension de la physiopathologie des MNAI.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure globale du muscle	15
Figure 2 : Structure de la myofibre et de la myofibrille	16
Figure 3 : Coloration des différents types de fibre musculaire	17
Figure 4 : Etapes de la régénération musculaire	19
Figure 5 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la dermatomyosite.....	27
Figure 6 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la polymyosite	28
Figure 7 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours du syndrome des anti-synthétases.....	29
Figure 8 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la myosite à inclusion....	30
Figure 9 : Frise chronologique de la découverte des auto-anticorps spécifiques des myopathies auto-immunes	35
Figure 10 : Classification des myopathies auto-immunes en fonction des auto-anticorps	35
Figure 11 : Gènes de susceptibilités associés à certains auto-anticorps.....	43
Figure 12 : Structure du complexe SRP	61
Figure 13 : Rôle du complexe SRP	61
Figure 14 : Structure de l'enzyme HMGCR.....	67
Figure 15 : Comparaison de la structure de la lovastatine et de l'HMG-CoA	70
Figure 16 : Cytotoxicité dépendante du complément	84
Figure 17 : Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps.....	84
Figure 18 : Fragments obtenables à partir d'une immunoglobuline.	85
Figure 19 : Auto-anticorps anti-desmoglérine au cours des syndromes pemphigus.....	86
Figure 20 : Auto-anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine au cours de la myasthénie	87
Figure 21 : Auto-anticorps anti-récepteur à la TSH dans les thyroïdites auto-immunes....	88
Figure 22 : Divers mécanismes impliqués dans l'anémie hémolytique auto-immune	90
Figure 23 : Glycosylation des IgG1 anti-collagène de type II.....	92
Figure 24 : Mécanismes pathogènes liés aux auto-anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles	95
Figure 25 : Influence de l'injection d'une forte dose d'IgG anti-HMGCR ⁺ sur une courte durée.....	138
Figure 26 : Influence de l'injection d'une forte dose d'IgG	139

Figure 27 : Influence de la cible antigénique.....	140
Figure 28 : Schéma explicatif du test de criblage des hybridomes	142
Figure 29 : Caractérisation de l'anticorps monoclonal 4.38.....	144
Figure 30 : Localisation des protéines d'intérêt au sein des fibres musculaires.....	147
Figure 31 : Alignement des séquences Homme et Souris de la protéine HMGCR.....	184
Figure 32 : Protéines différentiellement exprimées lors d'un transfert passif d'IgG anti-HMGCR ⁺	187
Figure 33 : Réparation du sarcolemme médiée par la Dysferline	191
Figure 34 : Possible schéma de la physiopathologie des MNAI à auto-anticorps anti-SRP ou anti-HMGCR.....	193

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales myopathies inflammatoires	20
Tableau 2 : Cibles antigéniques des auto-anticorps associés aux myopathies auto-immunes	34
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des auto-antigènes ciblés par les auto-anticorps spécifiques rencontrés au cours des myopathies auto-immunes.....	41
Tableau 4 : Gènes de susceptibilité associés aux auto-anticorps spécifiques et associés..	43
Tableau 5 : Classification des myopathies inflammatoires selon Bohan et Peter	44
Tableau 6 : Composants des critères de classification des myopathies inflammatoires....	46
Tableau 7 : Critères de classification des myopathies inflammatoires	46
Tableau 8 : Critères de classification des IBM	47
Tableau 9 : Caractéristiques musculaires observées à l'IRM dans les myopathies auto-immunes	57
Tableau 10 : Caractéristiques histologiques des biopsies musculaires de patients atteints de MNAI	60
Tableau 11 : Caractéristiques cliniques, musculaires et extra-musculaires des patients atteints de MNAI à auto-anticorps anti-SRP	66
Tableau 12 : Caractéristiques cliniques, musculaires et extra-musculaires des patients atteints de MNAI à auto-anticorps anti-HMGCR.....	66
Tableau 13 : Gènes de susceptibilité associés aux auto-anticorps spécifiques des MNAI .	73
Tableau 14 : Tableau récapitulatif des modèles animaux de myosite	80
Tableau 15 : Exemples d'auto-anticorps et arguments de pathogénicité	83
Tableau 16 : Sous-classes d'immunoglobulines chez l'homme	89
Tableau 17 : Récepteurs gamma Fc.....	89
Tableau 18 : Cibles intracellulaires des auto-anticorps, localisation et maladies auto-immunes associées	93
Tableau 19 : Exemples de résultats obtenus lors du criblage des hybridomes	142

ABREVIATIONS

aAc :	Auto-anticorps	EBA :	Epidermolyse bulleuse acquise
aAg :	Auto-antigène	ELISA :	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
AAM :	Anticorps associé aux myosites	EMG :	Electromyogramme
AChR :	Récepteur de l'acétylcholine	ENMC :	<i>European neuromuscular centre</i>
AcM :	Anticorps monoclonal	Fc :	Fragment cristallisable
ADCC :	<i>Antibody-dependent cell cytotoxicity</i>	FcR :	<i>Fc receptor</i>
AHAI :	Anémie hémolytique auto-immune	FHL1 :	<i>Four and a half LIM domains 1</i>
ALBIA :	<i>Adressable laser bead immuno-assay</i>	GST :	Glutathione S transférase
ARNm :	ARN messenger	HA :	Haplotype ancestral
ARNt :	ARN de transfert	HLA :	<i>Human leucocyte antigen</i>
ASM :	Anticorps spécifique des myosites	HMGCR :	3-Hydroxy-3-MéthylGlutaryl-CoA Réductase
CDC :	<i>Complement-dependent cytotoxicity</i>	HRS :	Histidyl-ARNt synthétase
CDR :	<i>Complementarity determining region</i>	IBM :	<i>Inclusion body myositis</i> (myosite à inclusion)
CFA :	<i>Complete Freund adjuvant</i>	IFN :	Interféron
CK :	Créatine kinase	IRM :	Imagerie par résonance magnétique
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité	IVIg :	Immunoglobulines intraveineuses
cN1A :	<i>Cytosolic 5'-nucleotidase 1A</i>	LES :	Lupus érythémateux systémique
DC :	<i>Dendritic cell</i> (cellule dendritique)	LT :	Lymphocyte T
DM :	Dermatomyosite	LB :	Lymphocyte B
Dsg :	Desmoglérine	MAE :	Myopathie auto-immune expérimentale

MDA5 : *Melanoma differentiation-associated protein 5*

MFI : *Mean fluorescence intensity*

MAI : Myopathie inflammatoire auto-immune

MIC : Myopathie induite par la protéine C

MNAI : Myopathie nécrosante auto-immune

NK : *Natural Killer*

NOD : *Non-obese diabetic*

NXP2 : *Nuclear matrix protein 2*

OVA : Ovalbumine

PM : Polymyosite

PTPN22 : *Protein tyrosine phosphatase N22*

PTT : Purpura thrombotique thrombocytopénique

RE : Réticulum endoplasmique

RNP : Ribonucléoprotéine

SAE : *Small ubiquitin-like modifier activating enzyme*

SAS : Syndrome des anti-synthétases

scFv : *Single chain fragment variable*

SNP : *Single nucleotide polymorphism*

SRP : *Signal recognition particle*

TIF : *Transcription intermediary factor*

TNF : *Tumor necrosis factor*

TSH(R) : *Thyreostimulin (receptor)*

UPR : *Unfolded protein response*

I- INTRODUCTION

A) Le muscle : fonction, structure et régénération

Les muscles squelettiques représentent entre 30 et 40% du poids selon le sexe et l'âge et contiennent entre 50 et 75% des protéines de l'organisme. C'est donc le tissu le plus abondant du corps humain. Les muscles squelettiques sont contrôlés de façon consciente et donc responsables des mouvements. Par opposition, les muscles lisses sont contrôlés de façon inconsciente et sont responsables de la respiration, de la digestion ou de la circulation du sang. Le rôle des muscles est de transformer une énergie chimique en énergie mécanique, générant ainsi mouvement et force. Ils possèdent également divers rôles métaboliques par la production de chaleur et le stockage d'acides-aminés et de carbohydrates (Frontera and Ochala, 2015).

1. Structure

Le muscle squelettique est principalement composé de fibres musculaires et tissu conjonctif (fascia ou matrice extracellulaire) organisés de façon particulière. L'entité muscle est entourée par l'épimysium, enveloppe de tissu conjonctif permettant de l'individualiser. Au sein du muscle des groupements de fibres forment les faisceaux musculaires entourés par une nouvelle enveloppe de tissu conjonctif, le périmysium. Enfin, chaque fibre musculaire est entourée par l'endomysium ainsi que par sa membrane cellulaire appelée sarcolemme (Figure 1 1). Le tissu conjonctif a donc pour rôle la structuration du muscle, ainsi que la protection de ses composants. Il abrite également les nerfs ainsi que les vaisseaux sanguins et lymphatiques (Trovato et al., 2016).

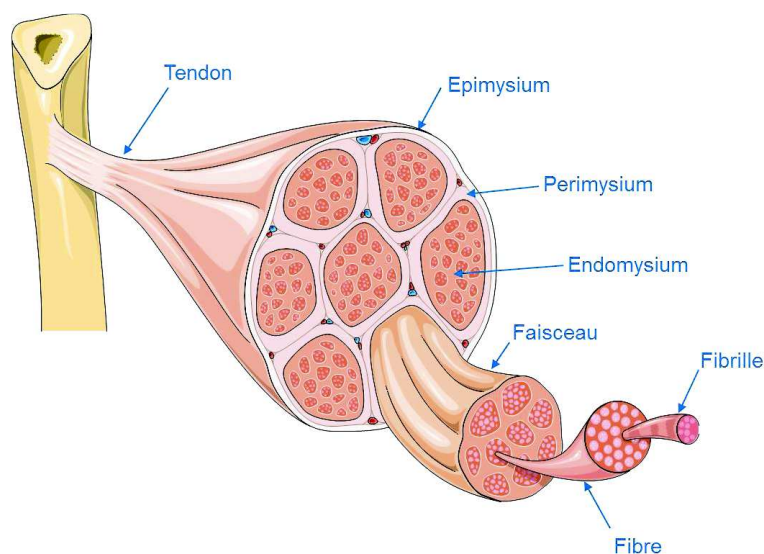


Figure 1 : Structure globale du muscle

Les fibres musculaires sont polynucléées et résultent de la fusion de nombreux myoblastes formant un syncytium. Chaque noyau contrôle la synthèse des protéines au sein d'une région spécifique de la fibre musculaire. Les plus abondantes de ces protéines sont l'actine et la myosine. Elles forment des myofilaments qui s'assemblent pour former les myofibrilles, présentes par milliers dans chaque fibre musculaire. L'unité contractile de base au sein de ces myofilaments est le sarcomère. D'autres protéines comme la titine et la nébuline contribuent à l'intégrité du sarcomère. Les myofibrilles occupant la majorité de l'espace dans la fibre musculaire, les noyaux sont repoussés en périphérie contre le sarcolemme (Figure 2, Frontera and Ochala, 2015).

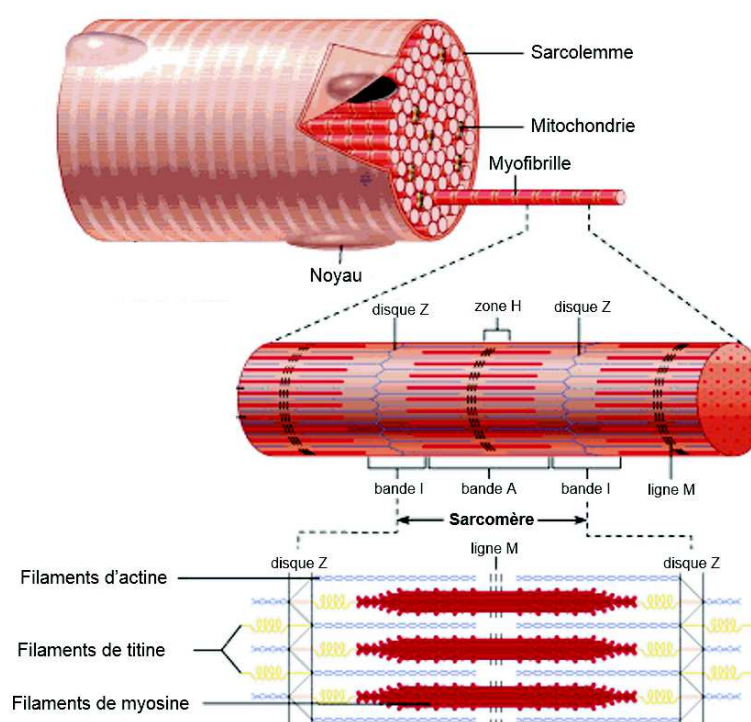


Figure 2 : Structure de la myofibre et de la myofibrille
 Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Entre le sarcolemme et la lame basale (composant de l'endomysium), sont retrouvées les cellules souches musculaires appelées cellules satellites. Elles sont monopotentes, capables d'auto-renouvellement et sont responsables de la croissance et de la régénération du muscle. Lorsqu'elles sont activées, elles se différencient en myoblastes qui fusionnent pour former une fibre musculaire (Relaix and Zammit, 2012). Elles peuvent être caractérisées par l'expression des marqueurs Pax3, Pax7 (facteurs de transcription), M-cadhérine et CD34 (Baghdadi and Tajbakhsh, 2017).

2. Les différents types de fibre musculaire

Il existe une hétérogénéité au sein des caractéristiques biochimiques, mécaniques et métaboliques des fibres musculaires. Les muscles du corps possèdent différentes proportions de chaque type de fibre, qui sont classées selon leur teneur en myoglobine, leur vitesse de contraction, leur fatigabilité et la prédominance des voies métaboliques utilisées (oxydative/glycolytique) (Figure 3, Lamboley et al., 2014) :

- Type I : riche en mitochondries et myoglobine. Fibre oxydative à contraction lente et résistante à la fatigue
- Type IIa : riche en mitochondries et myoglobine, mais aussi en glycogène et donc capable de glycolyse anaérobie. Fibre oxydative à contraction rapide et aux propriétés métaboliques intermédiaires
- Type IIb ou IIx : riche en glycogène et pauvre en mitochondries et myoglobine. Fibre glycolytique à contraction très rapide et sensible à la fatigue

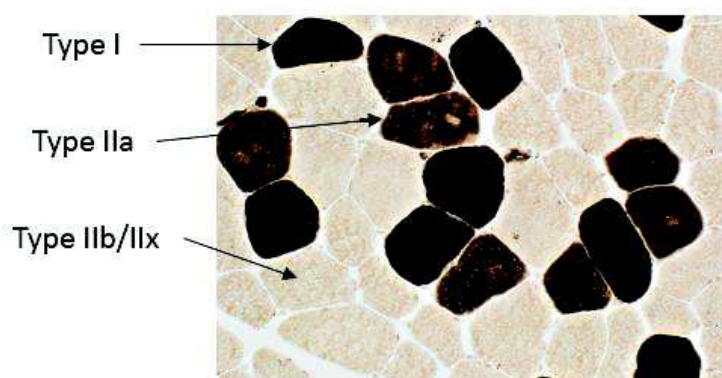


Figure 3 : Coloration des différents types de fibre musculaire

Cette coloration met en évidence l'activité ATPase qui permet de déterminer le type de fibre musculaire

Cette hétérogénéité pourrait refléter une adaptation aux différents stimuli reçus des motoneurones.

3. Dégénération et régénération

Suite à un dommage, 3 phases se superposent afin de revenir à l'homéostasie musculaire. La première phase, dégénérative, se caractérise par la nécrose et l'inflammation du tissu lésé. Puis, suite à la clairance des débris cellulaires, de nouvelles fibres musculaires apparaissent qui expriment des chaînes lourdes de myosine embryonnaire et néonatale. Enfin, l'irrigation sanguine et l'innervation sont restaurées et de nouvelles cellules satellites sont mises en place (Baghdadi and Tajbakhsh, 2017). La lésion peut être cantonnée à une partie

d'une myofibre qui sera alors réparée ou entrainer la destruction totale de plusieurs myofibres.

La nécrose des fibres musculaires se caractérise par une dissolution du sarcolemme qui entraine la libération de protéines musculaires, comme la créatine kinase qui se retrouve dans le sang, et l'activation de protéases qui vont détruire les constituants cellulaires dont les myofibrilles. La brèche dans l'intégrité du sarcolemme induit l'activation du système complément qui, par chimiotactisme, va recruter des neutrophiles puis des macrophages qui vont exercer des activités de protéolyse, d'oxydation et de phagocytose. Il existe 2 populations distinctes de macrophages, actifs de façon séquentielle. Premièrement, des macrophages pro-inflammatoires CD68⁺, responsables de la phagocytose des tissus nécrotiques, sont présents dès 3 heures post-lésion puis disparaissent rapidement. Ils promulguent la prolifération des myoblastes. Ensuite, des macrophages CD163⁺, anti-inflammatoires, sont présents entre 2 et 4 jours après la lésion. Ils contribuent à la résolution de l'inflammation et promulguent la différenciation et la fusion des myoblastes (Chazaud et al., 2009; Ciciliot and Schiaffino, 2010; Sonnet, 2006).

De nombreux signaux déclenchent l'activation des cellules satellites à la suite d'une lésion musculaire : l'apparition de sphingosine-1-phosphate, la production d'oxyde nitrique et le relargage de facteur de croissance des hépatocytes. Les cellules satellites prolifèrent rapidement dès le 2^{ème} jour post-lésion (Nagata et al., 2006; Tatsumi et al., 1998, 2006). Une partie de ces cellules retournent à l'état de quiescence afin de conserver le pool de cellules souches et l'autre partie entame une différenciation avec l'expression des facteurs de régulation myogéniques MyoD, Myf5, myogénine et Mrf4. Les cellules satellites activées se différencient rapidement, avec l'expression de différentes chaînes lourdes de myosine (embryonnaires, néonatales puis adultes) et la fusion des myoblastes en myotubes (Figure 4, Ciciliot and Schiaffino, 2010).

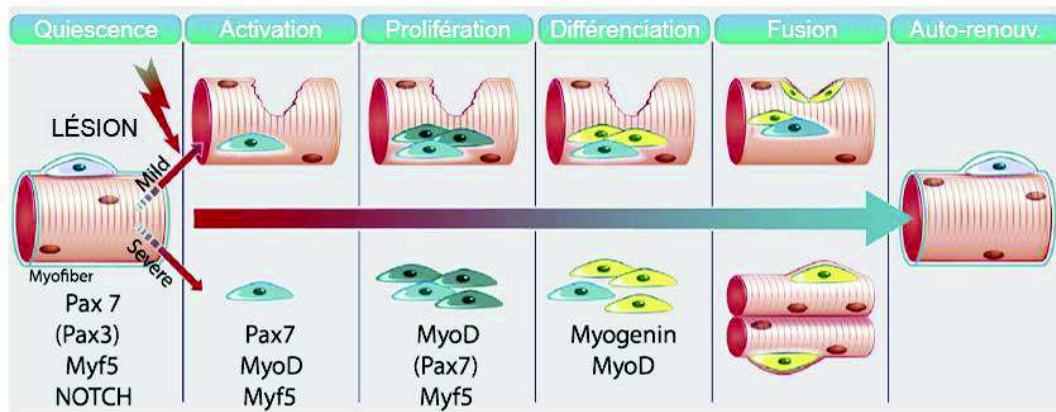


Figure 4 : Etapes de la régénération musculaire

Suite à une lésion légère (mild) ou grave (severe), les cellules satellites quiescentes s'activent puis se différencient pour réparer la fibre endommagée ou reconstituer des fibres complètement détruites. Le processus myogénique est strictement régulé par des facteurs de transcription clés. Les cellules satellites quiescentes expriment Pax7 (et Pax3 dans certains muscles) et Myf5. Les signaux Notch sont très actifs. Suite à une lésion, MyoD est rapidement surexprimé et Myf5 et Pax7 restent détectables. Après la phase d'amplification, les myoblastes expriment le gène de différenciation terminal Myogénine et sortent du cycle cellulaire. Les myoblastes différenciés fusionnent à la fibre endommagée (lésion légère) ou ensemble pour former de nouvelles fibres (lésion grave). Parallèlement, certaines cellules satellites s'auto-renouvellent pour reformer le pool de cellules souches.

L'efficacité de la maturation des myofibres et du remodelage du muscle passe par le maintien de la lame basale. La croissance et la maturation du muscle régénéré nécessite le rétablissement de l'innervation de la zone lésée (Ciciliot and Schiaffino, 2010). De façon générale, les nouvelles myofibres sont de petite taille avec un noyau central (systématique chez le rongeur mais pas chez l'homme, Schmalbruch, 1976).

B) Place des myopathies nécrosantes auto-immunes dans les myopathies inflammatoires

Une myopathie est définie par le dysfonctionnement des fibres musculaires résultant en une faiblesse musculaire. Les myopathies peuvent avoir diverses origines, classées en deux grands groupes : héréditaires (telles que les dystrophies) et acquises. Parmi les myopathies secondaires, les myopathies inflammatoires sont définies par une faiblesse musculaire et un infiltrat inflammatoire. Les myopathies inflammatoires peuvent être de présentation et d'origine très variées reflétant la complexité de leur physiopathologie (Tableau 1) (Benveniste et al., 2007).

Les principales myopathies inflammatoires	
Idiopathiques	Dermatomyosite Syndrome des anti-synthétases Myopathie nécrosante auto-immune Myosite à inclusions Polymyosite
Associées à une maladie systémique	Lupus érythémateux disséminé Connectivite mixte Sclérodermie systémique Syndrome de Gougerot-Sjögren Polyarthrite rhumatoïde
Secondaires à une infection	Virale (VIH, HTLV-1, entérovirus, coxsackie virus, ross river virus, chikungunya virus...) Bactérienne (<i>Clostridium perfringens</i> , streptocoques anaérobies, <i>Aeromonas hydrophila</i> , etc.) Parasitaire (toxoplasmose, trichinose, cysticercose...) Fongique (candidose disséminée)
Diverses	Myosites associées à un cancer Myosites ossifiantes Myosites à éosinophiles Myosites granulomateuses Réaction du greffon contre l'hôte
Héréditaires pouvant être accompagnées d'inflammation musculaire	Dysferlinopathies Dystrophies facioscapulohumérales

Tableau 1 : Principales myopathies inflammatoires
Adapté de Benveniste et al., 2007

Le qualificatif « idiopathique » des myopathies inflammatoires est historique, et il est désormais largement admis que ces myopathies sont d'origine auto-immune. Les myopathies auto-immunes (MAI) représentent un groupe hétérogène composé de 5 types de myopathies : la dermatomyosite (DM), la polymyosite (PM), la myosite à inclusions (IBM), le syndrome des anti-synthétases (SAS) et plus récemment identifiées les myopathies nécrosantes auto-

immunes (MNAI) (Hoogendijk et al., 2004). Selon les groupes d'étude, peuvent se rajouter à ces entités principales les myosites de chevauchement (myopathie dans le contexte d'une maladie des tissus conjonctifs comme la sclérodermie systémique, le lupus erythémateux systémique ou la polyarthrite rhumatoïde), et/ou les myosites non-spécifiques (Allenbach et al., 2017; Mammen, 2016). Une combinaison spécifique d'aspects cliniques, immuno-pathologiques et histologiques permet de différencier ces sous-types. En règle générale, les MAI sont des affections chroniques caractérisées par une faiblesse musculaire, la présence plus ou moins importante de manifestations extra-musculaires ainsi que la présence d'auto-anticorps (aAc) spécifiques ou associés (Barsotti et al., 2015; Dalakas, 2015; Hoogendijk et al., 2004; Malik et al., 2016; Tieu et al., 2016).

Les MAI sont des maladies rares, comme en témoigne une méta-analyse de 2015, avec une incidence de 7,98/million d'habitants/an et une prévalence de 14/100 000 habitants, sans disparité claire au niveau géographique (Meyer et al., 2015). A l'exclusion de l'IBM, une prépondérance féminine est observée avec un ratio d'environ 2:1 (Furst et al., 2012; Smoyer-Tomic et al., 2012; Tan et al., 2013). Une étude s'intéressant plus particulièrement à l'IBM note un ratio homme:femme de 3:2 (Molberg and Dobloug, 2016). L'âge moyen au diagnostic est plus élevé pour l'IBM (67ans) que pour la DM (55ans) et la PM (59ans) (Molberg and Dobloug, 2016; Tan et al., 2013). Malheureusement, la plupart des études épidémiologiques se basant sur une classification des MAI en PM, DM et IBM, aucune donnée n'est disponible pour les autres sous-types, et les données d'incidence pour la PM en particulier ne sont donc pas fiables puisque probablement très largement surestimées par le fait qu'elles englobent MNAI, SAS et myosite de chevauchement.

1. Les myopathies inflammatoires auto-immunes (hors myopathies nécrosantes auto-immunes)

1.1. Aspects cliniques et paracliniques

Le diagnostic des MAI est centré à la fois sur une évaluation extensive du muscle du patient, sur la présence d'aAc ainsi que sur l'existence d'atteintes extra-musculaires. Le muscle est évalué en premier lieu par un examen clinique visant à apprécier la faiblesse musculaire ainsi que par l'histoire évolutive de la maladie. Le bilan est complété par des examens dont l'électromyogramme (EMG), l'imagerie par résonnance magnétique (IRM), la

détermination du taux sérique d'enzymes musculaires et la recherche d'aAc. En dernier lieu, c'est le plus souvent la biopsie musculaire qui est l'élément majeur permettant la classification fiable de la MAI (Barsotti et al., 2015; Dalakas, 2015).

1.1.1. Diagnostic clinique

L'étude de l'anamnèse permet de déterminer le début des symptômes et donc la vitesse de progression de la maladie (aiguë, subaiguë ou chronique), de même que l'exposition à des traitements qui pourraient être associés au déclenchement de la myopathie. L'examen physique détermine la localisation de l'atteinte musculaire : proximale/distale, symétrique/asymétrique et quantifie la perte de la force musculaire.

En effet, la faiblesse musculaire est la caractéristique principale des MAI. Elle est avant tout proximale, symétrique et d'installation aiguë ou subaiguë (quelques semaines à quelques mois) pour les PM, DM et SAS (Dalakas, 2015). L'IBM se distingue par une atteinte distale (qui demeure cantonnée aux cas avancés dans les autres formes de MAI) et asymétrique avec une installation très progressive (plusieurs années) (Hilton-Jones and Brady, 2016). Dans tous les sous-types, les muscles nucaux et pharyngés peuvent être atteints et conduire à une camptocormie (anomalie de la posture : flexion antérieure du tronc en position debout mais pas en position couchée) et à une dysphagie. Les cas avancés de MAI peuvent aller jusqu'à une dyspnée lorsque les muscles respiratoires sont atteints (Dalakas, 2015). Les douleurs musculaires (myalgies) sont surtout retrouvées dans le SAS (Stanciu et al., 2008), inconstantes et peu spécifiques, elles ne sont donc pas considérées comme critère diagnostique (Trojanov et al., 2005).

L'examen physique du patient détermine également les atteintes extra-musculaires. Hormis la DM et ses signes spécifiques (rash héliotrope et papules de Gottron), une atteinte cutanée est possible au cours du SAS (rash, érythème, hyperkératose, sclérodactylie et phénomène de Raynaud). La calcinose, spécifique de la DM consiste en des dépôts d'hydroxyapatite dans la peau, les tendons, les muscles et le fascia. Les articulations peuvent également être atteintes avec des arthralgies ou une arthrite (Meyer et al., 2017). L'atteinte extra-musculaire la plus grave touche le poumon avec la pneumopathie interstitielle et l'hypertension artérielle pulmonaire (Mathai and Danoff, 2016). Des anomalies cardiaques asymptomatiques sont fréquentes et probablement sous-estimées. Certains sous-types de

myopathie inflammatoire, particulièrement la DM, sont fortement associés à un risque de cancer (Wang et al., 2013).

L'ampleur des atteintes extra-musculaires est souvent inversement corrélée à la gravité de l'atteinte musculaire (Meyer et al., 2017). L'association des atteintes musculaires et extra-musculaire permet d'orienter la classification de la MAI mais ne permet pas un diagnostic définitif hormis dans certains cas comme pour la DM et ses atteintes cutanées caractéristiques.

1.1.2. Electromyogramme et imagerie par résonance magnétique

L'EMG est anormal et de type myogène de façon quasi-systématique dans tous les sous-types de MAI. Il ne permet donc pas de les distinguer mais il peut empêcher de confondre une MAI avec une neuropathie (Castro and Gourley, 2012; Hoogendijk et al., 2004).

L'IRM, par son caractère non-invasif, représente un avantage sur l'EMG. L'IRM, également considérée comme un outil diagnostique par l'ENMC (*European NeuroMuscular Center*) (Hoogendijk et al., 2004), peut donner des informations précieuses sur la présence, l'étendue et l'évolution de l'œdème, de l'infiltrat inflammatoire, du remplacement graisseux, de la fibrose ou de l'atrophie (Barsotti et al., 2015; Castro and Gourley, 2012; Dalakas, 2015). Elle peut donc guider utilement le site de la biopsie. Des études ont également été menées pour améliorer l'analyse des images obtenues en cas de remplacement graisseux, qui peut simuler une aggravation de la maladie, et donner des résultats fiables et quantitatifs (Yao and Gai, 2012). Dans tous les sous-types de MAI, l'activité de la maladie est corrélée à l'IRM (Barsotti et al., 2015; Tomasová Studynková et al., 2007) et plus particulièrement à l'œdème (Zheng et al., 2015). En effet, lorsque la maladie progresse, l'œdème diminue pour laisser la place à l'atrophie et à l'infiltration graisseuse qui pourraient représenter une réponse réactionnelle (Pinal-Fernandez et al., 2016; Zheng et al., 2015) et sont signes de dommage musculaire pouvant être irréversible (Sanner et al., 2010). De plus, dans l'étude de Zheng et al., ces caractéristiques sont corrélées avec une bonne (œdème) ou une mauvaise réponse à la thérapie (infiltration graisseuse grave).

L'IRM est capable d'objectiver des différences entre les sous-types de MAI (Sekul et al., 1997; Tomasová Studynková et al., 2007), en plus de distinguer MAI et dystrophies. Bien que les caractéristiques de sous-type soient changeantes et parfois contradictoires au sein des

multiples études, il se dégage néanmoins quelques particularités propres (à consulter dans la partie MNAI : Tableau 9).

Cette technique d'imagerie est donc un outil de choix pour le suivi de l'activité de la maladie ainsi que pour déterminer le meilleur site de réalisation de la biopsie (Adams et al., 1995; Barsotti et al., 2015; Cantwell et al., 2005; Curiel et al., 2009; Day et al., 2016). Le parallèle entre l'IRM et l'histologie a d'ailleurs été validé par une étude *in vivo* chez l'animal réalisée par notre laboratoire (Bourdennet et al., *soumis*). Malgré ses avantages, l'IRM ne suffit pas à poser un diagnostic et il est possible qu'elle soit normale ou difficilement interprétable.

1.1.3. Marqueurs biochimiques : enzymes musculaires

Une atteinte musculaire, qu'elle soit anodine comme lors d'un effort sportif ou pathologique (myopathie), peut endommager la membrane sarcoplasmique des myofibres, entraîner une augmentation de leur perméabilité et conduire au relargage d'enzymes cytoplasmiques telles que la créatine kinase (CK), les aminotransférases, la lactate déshydrogénase ou l'aldolase dans la circulation sanguine (Iaccarino et al., 2014). Parmi ces enzymes musculaires sériques, la CK, augmentée dans tous les sous-types de MAI, est l'indicateur de myolyse le plus sensible et son taux peut être multiplié jusqu'à 50 fois la valeur normale quand la maladie est active (Dalakas, 2015; Dalakas and Hohlfeld, 2003). La première cause rhumatologique de taux élevés de CK est d'ailleurs la MAI avec 55% des cas dans une étude récente (Leverenz et al., 2016). A noter que les valeurs usuelles de CK dépendent de nombreux facteurs tels que le sexe, l'ethnie, l'âge, la masse musculaire, l'exercice physique (Iaccarino et al., 2014).

Les taux les plus bas de CK (moins de 10 fois la normale) sont retrouvés dans l'IBM (Dalakas, 2015). Bien que le taux sérique de CK suive habituellement l'activité de la maladie chez un malade donné, il peut être normal pour certains patients atteints de DM (Fudman and Schnitzer, 1986; Ntusi and Heckmann, 2010; Sizemore, 2015), de SAS, d'IBM active (Dalakas, 2015) ou d'une pathologie de longue date quand la majorité du muscle a été endommagée ou remplacée par du tissu graisseux (Castro and Gourley, 2012).

Peu spécifiques, les aminotransférases, la lactate déshydrogénase ou l'aldolase peuvent également être augmentées dans d'autres circonstances comme une atteinte hépatique. Ces enzymes sont, de plus, moins sensibles. En effet, dans une série de 76 patients atteints de

PM/DM selon les critères de Bohan et Peter, 96% avaient des taux anormaux de CK et 87% des taux anormaux d'aldolase (Hochberg et al., 1986).

1.1.4. Caractéristiques histologiques

A l'exception de l'IBM ayant une localisation distale de la faiblesse musculaire évocatrice et de la DM avec son atteinte cutanée, l'examen clinique, l'imagerie et les taux sérologiques d'enzymes ne permettent pas de distinguer avec assurance les différentes MAI. En revanche, l'étude histopathologique d'une biopsie musculaire, sous réserve d'être réalisée dans un site atteint et interprétée par un pathologiste expérimenté, peut permettre de poser un diagnostic ferme.

L'examen d'une biopsie musculaire implique l'analyse de trois paramètres principaux (Pestronk, 2011) :

- Les anomalies de la **fibre musculaire**. Elle peut-être en nécrose, en régénération (petite taille, noyau central) ou de taille anormale et exprimer des marqueurs inhabituels comme le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ou II : CMH-I/II. En effet, le muscle est un des seuls tissus à ne pas exprimer à la surface de ses cellules le CMH-I. Des vacuoles, des inclusions, des agrégats de protéines ou des anomalies mitochondriales peuvent également être observés. La myofibre peut enfin être envahie par des cellules immunitaires, induisant au maximum une tunnelisation centromyocytaire.
- Les anomalies **immunologiques** qui peuvent être cellulaires ou humores. Les cellules immunitaires et inflammatoires qui peuvent infiltrer le muscle sont des lymphocytes (LT CD4, CD8, LB) ou des cellules de l'immunité innée (macrophages et cellules dendritiques en particulier). Les macrophages sont particulièrement impliqués dans la myophagocytose des fibres nécrotiques. La composante immunitaire humorale peut être associée à des dépôts de complexe d'attaque membranaire (C5b-9).
- La **localisation tissulaire** des lésions. Elle peut être endomysiale, pérимysiale et/ou vasculaire (capillaire), en particulier. La localisation des anomalies de la fibre musculaire au sein du muscle est déterminante.

1.1.4.1. Dermatomyosite

Les biopsies musculaires des patients atteints de DM sont caractérisées par une atrophie périfasciculaire, vraisemblablement causée par une atteinte des capillaires (Dalakas and Hohlfeld, 2003). Une déplétion focale des capillaires est observée, ainsi qu'une densité réduite et une positivité du marquage du C5b-9 (Figure 5A&B) (De Visser et al., 1989; Emslie-Smith and Engel, 1990). Il est probable que l'atteinte des capillaires ne soit pas primaire mais secondaire à une ischémie artérielle en amont (Gitiaux et al., 2013). Les vaisseaux atteints sont localisés dans le périmysium et l'endomysium en région périfasciculaire où l'atrophie est active (Pestronk et al., 2010). L'infiltrat inflammatoire est périvasculaire et périfasciculaire et est composé majoritairement de LB et LT CD4⁺ en cohérence avec un processus humoral (Figure 5C&D) (Dalakas and Hohlfeld, 2003; Greenberg et al., 2005). Le CMH-I est réexprimé chez l'ensemble des patients d'une étude de 2003, sur toutes les fibres avec un renforcement périfasciculaire ou restreint aux fibres atrophiques périfasciculaires (Civatte et al., 2003). Les données actuelles montrent que les interférons de type I (IFN-I) jouent un rôle prépondérant dans la physiopathologie de la DM. En effet, les transcrits induits par l'IFN-I sont surexprimés dans les muscles et la peau des patients atteints de DM. De plus, les voies de l'IFN-I peuvent avoir des effets délétères sur le muscle et les capillaires, expliquant les atteintes observées au cours de la DM (Day et al., 2017; Greenberg et al., 2005). En témoigne la corrélation entre les biomarqueurs des voies de l'IFN-I et l'activité cutanée de la maladie (Huard et al., 2017).

Les biopsies musculaires peuvent présenter des particularités en fonction du type d'aAc : les patients porteurs d'aAc anti-TIF1 γ (anti-TIF1 γ ⁺) présentent une dysfonction mitochondriale accrue avec un aspect très caractéristique de ce qui a été énoncé ci-dessus (atrophie périfasciculaire marquée, CMH-I renforcé en périfasciculaire et fort marquage du C5b-9) ; les patients porteurs d'aAc anti-Mi2 présentent volontiers une nécrose focale des myofibres avec une inflammation primaire augmentée, contrairement aux anti-NXP2⁺ (*Nuclear matrix protein 2*) ayant moins d'inflammation, et les anti-MDA5⁺ (*Melanoma differentiation-associated protein 5*) présentant une atrophie périfasciculaire légère si présente et peu d'infiltrat dans des zones CMH-I positives et périvasculaires (Benveniste et al., 2016; Pinal-Fernandez et al., 2015).

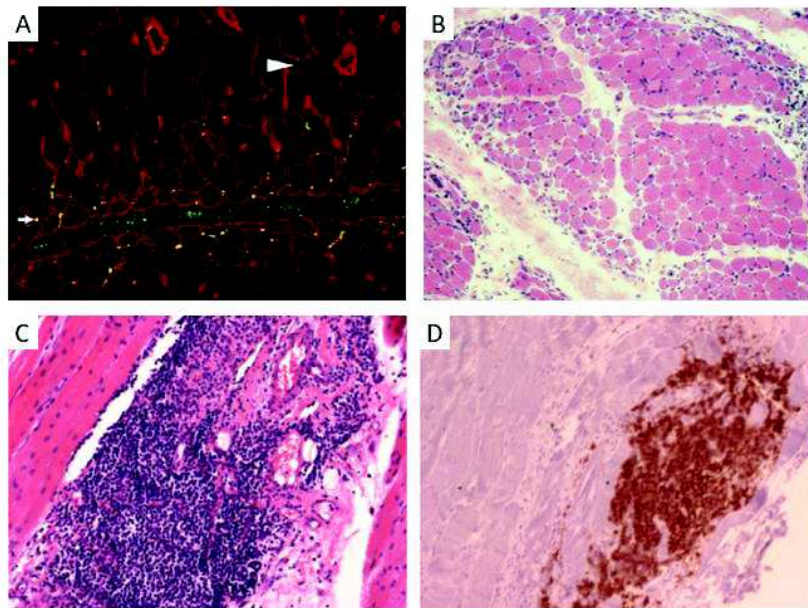


Figure 5 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la dermatomyosite

A. Périmysium avasculaire et dépôts de C5b-9 (vert) sur les capillaires vestigiaux situés dans les régions d'atrophie des myofibres (petite flèche) (Pestronk et al. 2010). **B.** Atrophie périfasciculaire, (Dalakas et al. 2003). **C.** Infarctus musculaire avec infiltrat inflammatoire périvasculaire, **D.** marquage des LB de l'infiltrat (Benveniste et al. 2007)

1.1.4.2. Polymyosite

La PM est caractérisée par un infiltrat inflammatoire multifocal et endomysial, constitué de LT CD8⁺ et de macrophages entourant et/ou envahissant les fibres musculaires non-nécrotiques exprimant le CMH-I (Figure 6) (Benveniste et al., 2007; Dalakas, 2011; Hoogendijk et al., 2004). La réexpression du CMH-I est diffuse (Figure 6A). Il est possible d'observer un aspect de tunnellisation centromyocytaire dans les myofibres (Benveniste et al., 2007). L'atrophie périfasciculaire, l'atteinte des capillaires, des vacuoles bordées et les dépôts de C5b-9 sur le sarcolemme de fibres non-nécrotiques constituent des critères d'exclusion de la PM (Hoogendijk et al., 2004).

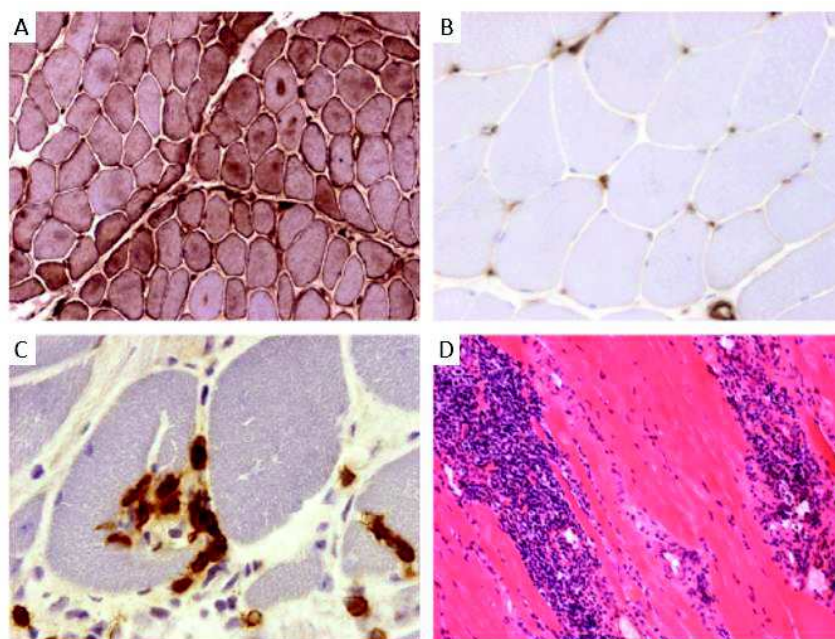


Figure 6 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la polymyosite

A. Expression intense et diffuse du CMH-I, même en région non-lésée. **B.** Absence d'expression du CMH-I par les myofibres chez un sujet sain et expression attendue par les capillaires. **C.** Fibre envahie par des LT CD8. **D.** Infiltrat inflammatoire endomysial. (Benveniste et al. 2007)

1.1.4.3. Syndrome des anti-synthétases

D'un point de vue histopathologique, le SAS est caractérisé par une atteinte périmysiale et périfasciculaire, mis en lumière pour la première fois en 2000 par Mozaffar et Pestronk. L'analyse de biopsies de patients porteurs d'aAc anti-Jo1⁺ a révélé une fragmentation du tissu conjonctif périmysial (Figure 7A) ainsi qu'un infiltrat composé majoritairement de macrophages. Cette atteinte du tissu conjonctif est confirmée par le marquage du périmysium par la phosphatase alcaline. La présence de myofibres en atrophie, nécrose et régénération est également plus forte dans la région périfasciculaire (Figure 7B) (Mozaffar and Pestronk, 2000). En 2011, dans une revue proposant une classification des myosites selon les caractéristiques histopathologiques, la même équipe précise ces observations, notamment concernant le type d'atteinte des myofibres, avec la présence de nécrose et régénération plutôt que d'atrophie. Ils observent également une réexpression du CMH-I là encore avec un renforcement périfasciculaire (Figure 7C) (Pestronk, 2011). Plusieurs études récentes ont confirmé et précisé ces observations (Aouizerate et al., 2014; Mescam-Mancini et al., 2015; Stenzel et al., 2015; Uruha et al., 2016). Au sein de ces études, en raison de l'atteinte commune des régions périfasciculaires, le SAS est souvent comparé à la DM. Dans ce sens, une fréquence plus élevée d'expression du CMH-II, plutôt que CMH-I a été mise en évidence chez les patients SAS (81,8% vs 23,5% DM), ainsi que des dépôts de C5b-9 à la surface des fibres non-

nécrotiques périfasciculaires (Figure 7D), dépôts plutôt présents sur les capillaires endomysiaux dans la DM (Aouizerate et al., 2014). Il est à noter que la toute première étude n'avait pas observé de dépôts de complément, contrairement aux études ultérieures (Aouizerate et al., 2014; Mescam-Mancini et al., 2015; Stenzel et al., 2015).

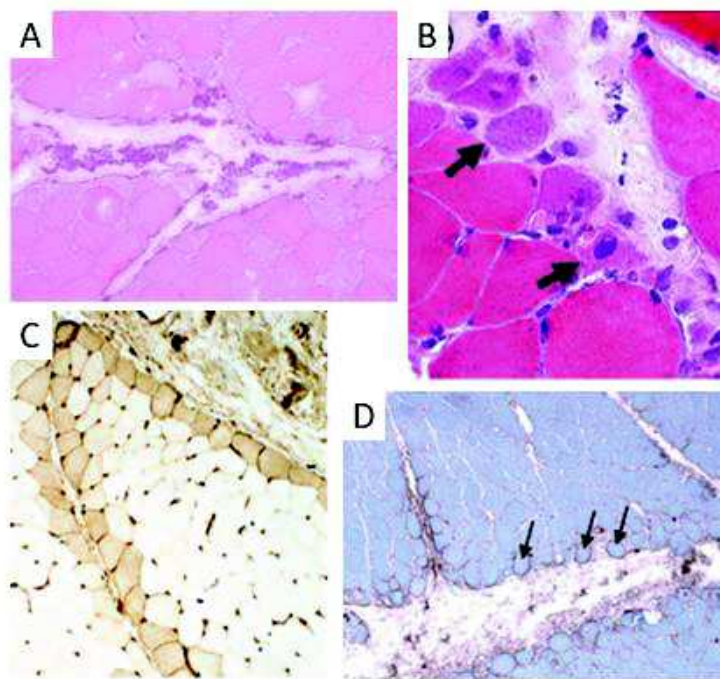


Figure 7 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours du syndrome des anti-synthétases

A. Fragmentation du tissu interstitiel conjonctif (coloration elastica van Gieson, Stenzel et al. 2015). **B.** Petites fibres périfasciculaires pouvant être nécrotiques ou en régénération (respectivement noyau large et cytoplasme basophile, flèches). **C.** Expression périfasciculaire du CMH-I en surface et intracellulaire sur des fibres d'apparence normales (Pestronk et al. 2011). **D.** Dépôts de C5b-9 observés à la surface des fibres périfasciculaires (Aouizerate et al. 2014).

Des inclusions de filaments myonucléaires d'actine ont été identifiées comme étant une caractéristique morphologique unique au SAS (Stenzel et al., 2015). Les SAS associés aux autres aAc (anti-OJ, -PL7, -PL12) semblent comporter les mêmes caractéristiques, avec une réserve concernant les anti-PL12 dont les patients présentent une moindre fréquence de nécrose/régénération compatible avec une atteinte musculaire moins grave (Stenzel et al., 2015; Uruha et al., 2016). Ces particularités font du SAS une entité propre, indépendante des autres sous-types de MAI.

1.1.4.4. Myosite à inclusions

Au cours de l'IBM, l'infiltrat inflammatoire observé sur les biopsies musculaires est similaire à celui d'une PM : une majorité de LT CD8⁺ accompagnés de macrophages entourant et/ou envahissant des myofibres non-nécrotiques endomysiales. Celles-ci et les fibres limitrophes expriment le CMH-I (Emslie-Smith et al., 1989; Griggs et al., 1995). Les

caractéristiques propres à l'IBM sont la présence de vacuoles bordées dans les myofibres, de dépôts intracellulaires de protéine amyloïde ou de tubulofilaments de 15 à 18nm (Figure 8B&D) (Griggs et al., 1995). Les myofibres vacuolés présentent également une accumulation anormale de prion et de récepteur à l'acétylcholine, ainsi que des dépôts protéiques typiques de ceux observés chez des sujets atteints de la maladie d'Alzheimer : alpha-antichymotrypsine, tau phosphorylée, ApoE, ubiquitine et amyloïde (Askanas et al., 1994). L'aspect « *ragged-red* » des myofibres (Figure 8A) est observé naturellement dans le muscle âgé, mais leur nombre est significativement augmenté au cours de l'IBM, comparé à des biopsies normales, ou issues de patients atteints de PM et DM du même âge. La plupart de ces myofibres *ragged-red* est déficiente pour la cytochrome C oxydase, suggérant un problème au niveau de la fonction mitochondriale (Figure 8C) (Rifai et al., 1995).

Il existe un vif débat sur la nature primitivement inflammatoire ou dégénérative de l'IBM, avec toutefois un faisceau d'arguments plus complet sur une hypothèse inflammatoire (Benveniste et al., 2015).

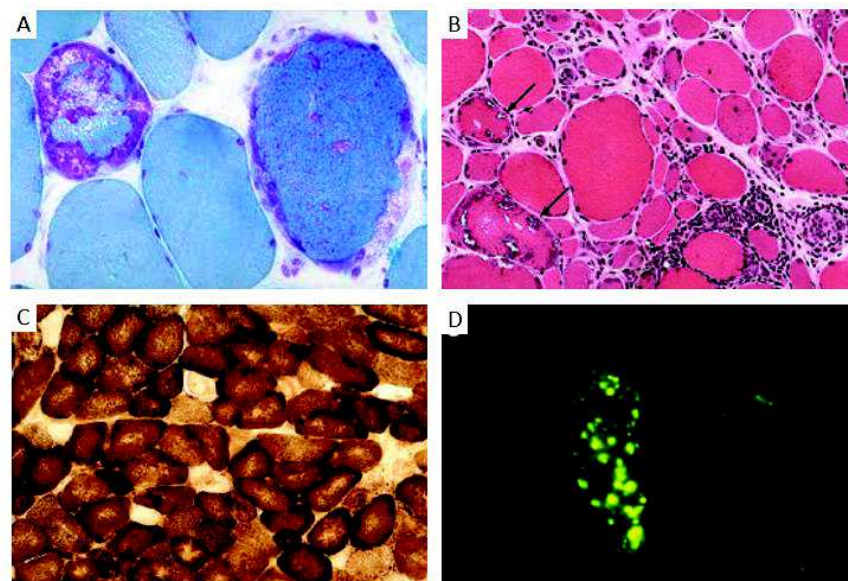


Figure 8 : Caractéristiques histologiques du muscle au cours de la myosite à inclusion

A. Fibres « *ragged-red* ». **B.** Myofibres contenant des vacuoles bordées (flèches) et infiltrat inflammatoire envahissant des fibres non-nécrotiques. **C.** Myofibres négatives pour la cytochrome-oxidase éparses (Dalakas et al. 2006). **D.** Dépôts amyloïdes intra-cytoplasmiques et intra-vacuolaires (Benveniste et al. 2015).

De par ses caractéristiques très distinctives entre les sous-types de MAI, il est logique que la biopsie soit considérée comme le juge de paix concernant le diagnostique des MAI. Il n'en demeure pas moins qu'il est possible qu'elle soit réalisée à un site non atteint, inconvénient qui pourrait être amoindri par l'apport de l'IRM.

1.2. Les auto-anticorps au cours des myopathies inflammatoires auto-immunes

Une des particularités auto-immunes des MAI est leur association à la présence d'aAc. La découverte de ces aAc a accompagné, et accompagne encore, la classification des MAI tout au long de son évolution. Ces aAc peuvent être classés en 2 groupes : les aAc associés aux myosites (AAM), qui sont retrouvés dans d'autres maladies auto-immunes, et les aAc spécifiques des myosites (ASM). Les ASM tendent à être mutuellement exclusifs et associés à des caractéristiques cliniques distinctes définissant ainsi des sous-types de MAI (Benveniste et al., 2016; Ghirardello et al., 2013; Love et al., 1991). C'est la technique d'immunoprécipitation qui a permis d'identifier les antigènes cibles de ces aAc (Benveniste et al., 2016). Leur détection peut être réalisée par différentes techniques de sensibilité et spécificité variables : immunofluorescence indirecte sur cellules Hep2 (localisation et aspects particuliers du signal), ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), Immunodot ou encore ALBIA (*Adressable laser beads immuno-assay*).

1.2.1. Auto-anticorps associés aux myosites

Les aAc associés aux myosites (AAM) caractérisent principalement les myosites de chevauchement. Ils peuvent également être retrouvés dans d'autres maladies auto-immunes et ne sont donc pas spécifiques des myosites. Les principaux auto-antigènes (aAg) reconnus sont : les ribonucléo-protéines Ro60/SSA, la protéine Ro52 (TRIM21), les aAg PM/Scl, l'hétérodimère nucléaire Ku (p70/80), et les composants de la ribonucléoprotéine U1RNP. Leur localisation est cytoplasmique ou nucléaire (Tableau 2).

1.2.1.1. Auto-anticorps anti-nucléaires

Les cibles des AAM sont principalement nucléaires et sont impliquées dans la transcription ainsi que la réparation de l'ADN.

a. Auto-anticorps anti-Ro52 et anti-Ro60

Il existe deux aAc anti-Ro : malgré leur nom similaire, les anticorps anti-Ro52 et les anti-Ro60/SSA reconnaissant deux protéines distinctes aux localisations différentes (Schulte-Pelkum et al., 2009a). Les anti-Ro60 sont particulièrement associés au LES et au syndrome de Gougerot-Sjögren, et peuvent être observés au cours des myosites de chevauchement (Defendenti et al., 2011; Rutjes et al., 1997). De façon intéressante, les anti-Ro52 reconnaissent TRIM21, une protéine de la même famille que TIF1 γ cible d'aAc au cours de la DM. Les anti-Ro52 peuvent être retrouvés au cours de nombreuses maladies auto-immunes dont les MAI où ils sont détectés de façon isolée (sans anti-Ro60) chez 35,4% des patients (Rutjes et al., 1997; Schulte-Pelkum et al., 2009b). Ils sont les AAM avec la prévalence la plus élevée au sein des MAI, en particulier au cours du SAS où ils sont souvent associés aux aAc anti-Jo1 (Trojanov et al., 2005).

b. Auto-anticorps anti-PM/Scl

Les aAc anti-PM/Scl ont été décrits pour la première fois en 1977 chez des patients atteints de PM. Les deux Ag reconnus, PM/Scl-100 et -75 font partie des exoribonucléases qui forment un complexe multiprotéique appelé exosome. Elles jouent un rôle dans la dégradation des ARNm. Ces aAc sont retrouvés chez les patients atteints de PM, DM et sclérodémie, avec la prévalence la plus élevée chez les patients atteints de syndrome de chevauchement (myosite/sclérodémie). Les résultats d'une méta-analyse les a identifiés chez 31% de ces derniers, contre 8 % des PM, 11 % des DM et 2 % de la sclérodémie (Mahler and Raijmakers, 2007).

c. Auto-anticorps anti-Ku

Les anticorps anti-Ku sont dirigés contre un hétérodimère composé de deux sous-unités de 70 et 80 kDa formant un complexe impliqué dans la réparation de l'ADN, la recombinaison des gènes codant pour les immunoglobulines, la protection des télomères et la régulation de la transcription. Les anti-Ku, plutôt rares, ont été identifiés pour la première fois chez des patients atteints de syndrome de chevauchement myosite/sclérodémie (Mimori et al., 1981). Il existe une discordance au sein des études concernant l'association entre les anti-Ku et le

syndrome de chevauchement (notamment avec une myosite). Quand certaines d'entre elles montrent une association claire (Franceschini et al., 2002; Rigolet et al., 2012), d'autres ne montrent pas de différence entre la myosite de chevauchement et d'autres myosites ou associent ces Ac à un simple LES (Lega et al., 2014; Vánca et al., 2010). Ces différences pourraient être dues à la technique de détection utilisée, l'ethnie ou le fond génétique des individus testés (Ghirardello et al., 2014).

Les signes cliniques associés aux anti-Ro52, -PM/Scl et -Ku sont similaires à ceux rencontrés lors d'un SAS : phénomène de Raynaud, pneumopathie interstitielle, arthrite. Des manifestations cutanées (dont des mains de mécanicien) peuvent être retrouvées chez les patients avec anti-PM/Scl (Cavazzana et al., 2013; Franceschini et al., 2002; Lega et al., 2010). Chez les patients présentant des anti-PM/Scl ou des anti-Ku la myosite est plutôt légère et répond aux corticostéroïdes alors que la pneumopathie interstitielle est grave et réfractaire aux traitements (Rigolet et al., 2012).

d. Auto-anticorps anti-RNP

U1-RNP est une ribonucléoprotéine constituée d'un petit ARN nucléaire (sn-ARN U1) et de 9 protéines. Elle fait partie du complexe ribonucléoprotéique appelé spliceosome impliqué dans la maturation des ARNm. Les anti-U1-RNP sont considérés comme un marqueur de différentes maladies systémiques. Ils peuvent ainsi être détectés dans la connectivite mixte, la sclérodermie systémique, le LES et les myosites (García-De La Torre 2015). Ils sont plus fréquemment retrouvés au cours du syndrome de chevauchement myosite/LES qu'au cours du LES seul et y sont souvent associés avec des anti-Jo1 (Ghirardello et al. 2014). De façon rare, des Ac dirigés contre d'autres sn-ARN (U2, U4, U5 et U6) peuvent être retrouvés, souvent associés aux anti-U1-RNP.

e. Auto-anticorps anti-NUP

Les anticorps anti-NUP ont été découverts en 1988 chez un patient atteint de PM et sont dirigés contre un pore nucléaire (Dagenais et al., 1988). Dans une étude récente, la même équipe suggère que ces aAc pourraient définir un nouveau syndrome de chevauchement, avec les caractéristiques cliniques suivantes : arthrite, névralgie trigéminal, pneumopathie interstitielle légère, phénomène de Raynaud et perte de poids. Ils sont associés aux anti-CCP (aAc de la polyarthrite rhumatoïde) et définissent alors un syndrome de chevauchement PM-sclérodermie systémique-polyarthrite rhumatoïde. De façon intéressante, les taux d'aAc

apparaissent corrélés à l'activité de la maladie, suggérant une implication dans la physiopathologie (Senécal et al., 2014). Ces aAc sont encore peu documentés et ne sont pas utilisés couramment pour le diagnostic.

Cible antigénique	Rôle de l'antigène	Aspect sur cellule HEp2	Ref	Fréquence (%)			
				PM	DM	MC	MAC
Ro52 (TRIM21)	E3 ubiquitine ligase	Pas d'aspect spécifique	a	37	45		
			b	27	24	21 (IBM)	
Ro60	Ribonucléoprotéine	Moucheté	b	3	4	11 (IBM)	
			c	37	15		
Ku	Réparation de l'ADN, recombinaison des gènes Ig, protection des télomères et régulation de la transcription	Moucheté	a	7	2		
			d	3	5	15	
			e	3,8		2,6	
			f	0	1	13	0
PM-Scl	Transformation des ARN ribosomiaux et la dégradation des ARN messagers (ARNm)	Nucléolaire	a	1	5		
			b	10	9		
			d		3	6	
			e	2,3		5,1	
			f	2	2	19	0
U1RNP	Partie d'un spliceosome impliqué dans la maturation des ARNm	Moucheté	a		2	13	
			e	9	4	3 (IBM)	
			b	2,3		10,3	
			f	4	8	26	5
NUP	Pore nucléaire		d	1		2	

Tableau 2 : Cibles antigéniques des auto-anticorps associés aux myopathies auto-immunes

MC : myosite de chevauchement, MAC : myosite associée au cancer. Ref : Cruellas et al. 2013 ^a; Brouwer et al. 2001 ^b; Selva-O'Callaghan 2006 ^c; Koenig et al. 2007 ^d; Váncsa et al. 2010 ^e; Anna Ghirardello et al. 2013 ^f;

1.2.1.2. Auto-anticorps anti-cytoplasme

Les anticorps dirigés contre des cibles cytoplasmiques sont beaucoup plus rares que ceux reconnaissant des cibles nucléaires, et très peu documentés. Il en existe quatre : les anti-Mas, les anti-Fer, les anti-KJ et les anti-PMS1. Le pourcentage de patients présentant ces Ac est néanmoins très faible (Brouwer et al., 2001; Casciola-Rosen et al., 2001; Targoff et al., 1989).

1.2.2. Auto-anticorps spécifiques des myosites

Les ASM sont présents chez 40% à 60% des patients atteints de myosite à l'exception de la PM. Ils sont mutuellement exclusifs et associés à des caractéristiques cliniques particulières, leur conférant un fort pouvoir diagnostique et pronostique. Le premier ASM, l'aAc anti-Mi2, a été découvert en 1976 (Reichlin and Mattioli, 1976) et leur première utilisation pour la classification remonte à 1991 dans une étude de Love et al. Ils sont donc étudiés depuis longtemps mais peu de questions liées à ces aAc, notamment leur rôle dans la physiopathologie des MAI, ont trouvé leur réponse (Figure 9, Figure 10).

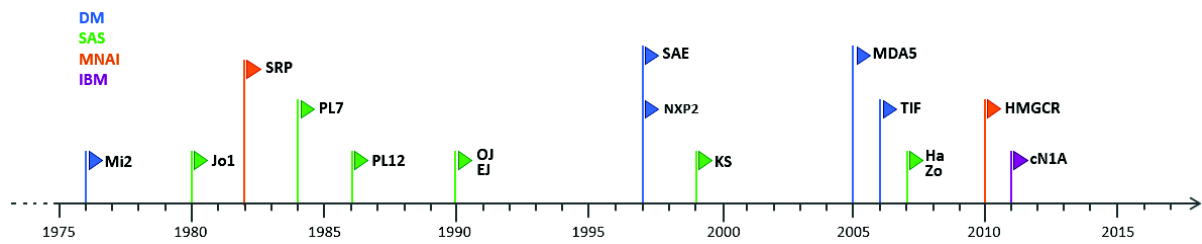


Figure 9 : Frise chronologique de la découverte des auto-anticorps spécifiques des myopathies auto-immunes
Le drapeau indique l'année de découverte de l'aAc. Bleu : DM, vert : SAS, orange : MNAI, violet : IBM

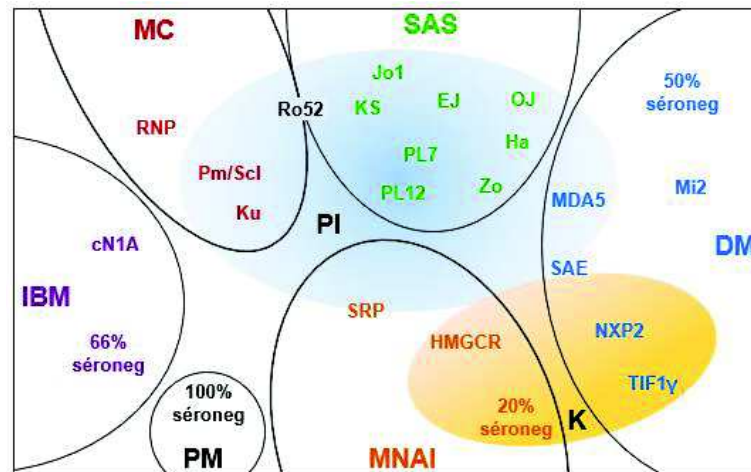


Figure 10 : Classification des myopathies auto-immunes en fonction des auto-anticorps
Bleu : DM, vert : SAS, orange : MNAI, violet : IBM, rouge : MC (myosite de chevauchement), noir : PM. Les aAc associés à la pneumopathie interstitielle (PI) et au cancer (K) sont inclus dans un ovale bleu et jaune respectivement, l'intensité de la couleur correspondant au degré de risque (Adapté de Benveniste et al. 2016)

1.2.2.1. Les auto-anticorps du syndrome des anti-synthétases

Les ASM les plus fréquemment retrouvés au cours des myosites sont les anti-synthétases, présents chez 25 à 35% des patients atteints de MAI (Koenig et al., 2007). Leurs cibles sont des enzymes cytoplasmiques, les aminoacyl-ARNt synthétases (AAS), qui catalysent l'estérification d'un acide aminé spécifique à son ARNt, formant un aminoacyl-ARNt, impliqués dans la synthèse protéique. Depuis leur découverte en 1980, 8 anti-AAS ont été décrits (Ghirardello et al., 2014; Nishikai and Reichlin, 1980), dont le plus représenté est l'anti-histidyl-ARNt-synthétase (anti-Jo1) détecté chez 20-30% des patients atteints de MAI (Cruellas et al., 2013; Koenig et al., 2007; Mahler et al., 2014). Les autres anti-AAS sont moins représentés (2 à 5% des MAI) et ont pour cible : thréonyl-ARNt-synthétase (anti-PL-7), alanyl-ARNt-synthétase (anti-PL-12), glycyl-ARNt-synthétase (anti-EJ), isoleucyl-ARNt-synthétase (anti-OJ), asparaginy-ARNt-synthétase (anti-KS), tyrosyl-ARNt-synthétase (anti-YRS/Ha), et phénylalaninyl-ARNt-synthétase (anti-Zo).

Ces aAc sont associés à des manifestations cliniques caractéristiques : myopathie inflammatoire, pneumopathie interstitielle diffuse, atteinte articulaire, atteinte cutanée des mains de type kératose fissuraire (mains de mécanicien) et syndrome de Raynaud définissant le syndrome des anti-ARNt-synthétase (Marguerie et al., 1990). Cependant, ces signes sont rarement tous présents chez un même patient et l'atteinte musculaire, moins fréquente (40-50%), est souvent moins grave et parfois même infraclinique chez les patients présentant un anti-AAS (Gelpí et al., 1996). L'atteinte pulmonaire peut être initiale.

De plus, chaque anti-AAS semble associé à un phénotype particulier. En effet, les anti-Jo1 sont plutôt associés à une atteinte musculaire et articulaire, et souvent initialement diagnostiqués à tort en PM, DM ou connectivite indifférenciée (83%) (Aggarwal et al., 2014). Au contraire, les non-anti-Jo1 sont caractérisés par une atteinte pulmonaire plus fréquente allant jusqu'à 90-100% chez les patients présentant un anti-PL7 ou anti-PL12 (Hervier et al., 2010; Kalluri et al., 2009; Sato et al., 2013; Yamasaki et al., 2006). Cette atteinte pulmonaire est d'ailleurs la raison principale d'une moins bonne survie de ces patients (Aggarwal et al., 2014; Hervier et al., 2012). Cependant, une autre étude a démontré une corrélation générale entre les porteurs d'aAc anti-synthétase et la pneumopathie interstitielle, les patients qui ne présentent pas initialement cette atteinte la développant par la suite (Hamaguchi et al., 2013). La sévérité de l'atteinte pulmonaire est déterminante dans le pronostic de la maladie.

La péricardite a également été associée aux anti-PL7 car présente dans 50% des cas (Hervier et al., 2011; Labirua-Iturburu et al., 2012). L'atteinte cutanée est plus fréquemment observée chez les patients présentant des anti-Jo1, -EJ, -PL7 et -PL12 (Hamaguchi et al., 2013).

1.2.2.2. Auto-anticorps spécifiques de la dermatomyosite

a. Auto-anticorps anti-Mi2

Les aAc anti-Mi2 ont été identifiés pour la première fois en 1976 dans le sérum du patient Mi (Reichlin and Mattioli, 1976), puis décrits en 1985 comme étant spécifiques de la DM (Targoff and Reichlin, 1985). L'antigène Mi-2 fait partie d'un complexe de remodelage de la chromatine appelé *nucleosome remodeling complex* (NuRD) ayant diverses fonctions telles que la désacétylation et déméthylation des histones, la mobilisation du nucléosome, ou encore le recrutement d'autres protéines de régulation notamment liées à l'oncogenèse (Ramírez and Hagman, 2009; Zhang et al., 1998). Les anti-Mi2 sont présents chez 10 à 30% des

patients atteints de DM et sont associés à une atteinte cutanée spécifique (papules de Gottron, rash héliotrope, signe du châte, photosensibilité), une atteinte pulmonaire interstitielle faible voire absente, une bonne réponse aux traitements (corticostéroïdes, rituximab) et sont donc classiquement de bon pronostic (Cruellas et al., 2013; Fujimoto et al., 2016; Ghirardello et al., 2006; Hamaguchi et al., 2011; Ikeda et al., 2011; Komura et al., 2005; Selva-O'Callaghan et al., 2006). Les anti-Mi2 donnent un aspect moucheté sur cellules HEp2. L'association des anti-Mi2 avec le cancer fait débat car seulement certaines équipes ont observé des cas de myosites paranéoplasiques chez ces patients (Benveniste et al., 2016; Ceribelli et al., 2016). Au vu du faible nombre de patients anti-Mi2⁺ dans chaque étude, de l'absence d'une étude de grande ampleur sur ces aAc et du rôle du complexe Mi2/NuRD dans l'oncogénèse, la possibilité de la présence ou du développement d'un cancer par ces patients ne devrait donc pas être totalement écartée.

b. Auto-anticorps anti-TIF1γ

Au contraire, les anti-TIF1γ ont été clairement associés à la présence de cancer dès leur identification simultanée par deux équipes (Kaji et al., 2007; Targoff et al., 2006). Les anti-TIF1γ sont retrouvés chez 13 à 40% des patients adultes et 30% des DM juvéniles (Fiorentino et al., 2013, 2015; Fujimoto et al., 2012; Kaji et al., 2007; Rider et al., 2013; Targoff et al., 2006). Un cancer est présent chez 75% des patients adultes (Kaji et al., 2007; Targoff et al., 2006). Dans une méta-analyse de 2012, cet aAc a montré une valeur prédictive positive de 58% et négative de 95%, sa sensibilité pour la DM associée au cancer est de 78% et sa spécificité de 89% (Trallero-Araguás et al., 2012).

Les anti-TIF1γ reconnaissent deux protéines nucléaires de 140 et 155 kDa, cibles rapidement identifiées comme le facteur de transcription intermédiaire 1γ (TIF1γ) (Targoff et al., 2006). Les protéines TIF1 font partie de la famille des protéines TRIM (tripartite-motif) et comprennent trois membres : TIF1β, TIF1α et TIF1γ. Elles jouent des rôles clés dans des voies et fonctions cellulaires, notamment la carcinogénèse. TIF1γ favorise la croissance et la différenciation cellulaire (Dupont et al., 2009). TIF1α et β, de par leur rôle dans l'ubiquitination de p53 ont des effets anti-apoptotiques, et sont associés au développement tumoral et à la prolifération cellulaire (Allton et al., 2009; Tsai et al., 2010). Lors de la recherche des aAc anti-nucléaires, les anti-TIF1γ donnent un aspect moucheté évocateur.

Une équipe japonaise a montré que l'aAg de 140 kDa était TIF1 α et celui de 155 kDa TIF1 γ , reconnus par des aAc distincts. TIF1 β peut également être reconnu. L'association anti-TIF1 α et anti-TIF1 γ est retrouvée chez 62% des patients et associée à un risque accru de cancer comparé aux anti-TIF1 γ seuls (73% vs 50%) (Fujimoto et al., 2012).

Les atteintes systémiques, en particulier la pneumopathie interstitielle, sont rares chez les patients anti-TIF1 γ ⁺ et ils sont également protégés contre la calcinose (Fiorentino et al., 2015; Kaji et al., 2007; Valenzuela et al., 2014). Les patients atteints de DM juvénile peuvent également présenter des anti-TIF1 γ ⁺ mais sans risque de cancer associé, et sont caractérisés par des papules de Gottron, un rash malaire, le signe du châte, une photosensibilité, une excroissance des cuticules, de plus bas niveaux de CK et une progression chronique (Rider et al., 2013). Chez les adultes, les signes cutanés associés sont plus graves que chez les patients anti-TIF négatifs : rash héliotrope ou signe du V, papules de Gottron, lésions de type psoriasis, poïkilodermie et érythème flagellé (Fiorentino et al., 2015; Kaji et al., 2007; Targoff et al., 2006).

c. Auto-anticorps anti-NXP2

Initialement décrits en 1997 dans une cohorte de patients atteints de DM juvénile (18%), les « anti-MJ » reconnaissent une protéine de 140 kDa (Oddis et al., 1997) identifiée ultérieurement comme étant la molécule NXP2 (Targoff et al., 2007). NXP2, également appelée MORC3 est impliquée dans la régulation de l'activité et de la localisation de p53, elle-même impliquée dans la sénescence cellulaire induite par signaux oncogéniques (Takahashi et al., 2007). Lors de la recherche des anti-nucléaires, les anti-NXP2 ont un aspect moucheté de type matrice nucléaire.

Les anti-NXP2 sont détectés chez 23 à 25% des patients atteints de DM juvénile avec une incidence accrue de calcinose et de contractures musculaires (Espada et al., 2009; Gunawardena et al., 2009; Rider et al., 2013). Chez les adultes, la fréquence des anti-NXP2 est très variable : 1,6%, 17% et 30% dans des cohortes japonaise, américaines et italienne respectivement (Ceribelli et al., 2012; Fiorentino et al., 2013; Ichimura et al., 2012). Ces différences pourraient être dues à la méthode de détection, à des facteurs génétiques ou environnementaux et nécessitent des études plus approfondies. Les anti-NXP2 sont également associés à une calcinose chez l'adulte mais aussi à une bonne réponse aux traitements (Ceribelli et al., 2012; Garel et al., 2015; Gunawardena et al., 2009). Le lien entre

ces aAc et le cancer a été identifié, même s'il semble moins important que pour les anti-TIF1γ avec 24% à 38% des patients anti-NXP2⁺ présentant un cancer (Fiorentino et al., 2013; Ichimura et al., 2012) ou au contraire une absence dans la cohorte anti-NXP2⁺ italienne (Ceribelli et al., 2012).

d. Auto-anticorps anti-SAE

Les aAc anti-SAE (*small ubiquitin-like modifier activating enzyme*) ont été découverts en 2007 chez 2 patients avec une atteinte cutanée suivie d'une myosite. Ces aAc reconnaissent deux aAg de 40 et 90 kDa, qui sont les sous-unités A et B de la SAE, impliqués dans la modification post-traductionnelle des protéines (Betteridge et al., 2007). Le pourcentage de DM présentant des anti-SAE semble varier selon l'ethnie des patients. En effet ils sont retrouvés chez 7 à 8% des patients caucasiens (Betteridge et al., 2009; Tarricone et al., 2012), et 1,5 à 3% des patients japonais (Fujimoto et al., 2013; Muro et al., 2013, 2015). Il est peu probable que ces résultats soient dus à la méthode de détection puisque le pourcentage le plus bas dans une étude japonaise a été mesuré avec la même méthode que les études caucasiennes (immunoprécipitation). En général, les patients présentent initialement une DM amyopathique avec une atteinte cutanée grave et développent une atteinte musculaire par la suite (Betteridge et al., 2009; Fujimoto et al., 2013). La fréquence des atteintes systémiques ou internes comme la pneumopathie interstitielle (18-86%) et la dysphagie (29-86%) est élevée (Betteridge et al., 2009; Fujimoto et al., 2013; Muro et al., 2015), bien qu'elles puissent être absentes (Muro et al., 2013; Tarricone et al., 2012). Lorsqu'elle est présente, la pneumopathie interstitielle répond bien aux traitements. Le sur-risque de cancer n'est pas validé actuellement même si l'association est décrite (Betteridge et al., 2009; Muro et al., 2015; Tarricone et al., 2012).

Les grandes variabilités des signes cliniques associés peuvent s'expliquer par le faible nombre de patients anti-SAE⁺ dans chaque étude. Les aAc anti-SAE semblent néanmoins délimiter un sous-type particulier de DM.

e. Auto-anticorps anti-MDA5

Les anti-MDA5 sont retrouvés chez 12 à 13% des DM dans les cohortes caucasiennes et 19 à 35% dans les cohortes asiatiques (Fiorentino et al., 2011; Labrador-Horrillo et al., 2014; Nakashima et al., 2010; Sato et al., 2009). Ces patients sont caractérisés par une DM amyopathique (57-100%) et une prévalence élevée de pneumopathie interstitielle aiguë et

progressive (50-100%) entraînant un très mauvais pronostic avec une mauvaise réponse aux traitements et une mortalité augmentée dans ce groupe (46%, Nakashima et al. 2010; Toshinori Takada et al. 2015; Moghadam-Kia et al. 2016). Une étude a décrit des signes cutanés spécifiques associés aux anti-MDA5 : ulcération, papules palmaires, ainsi qu'une vasculopathie. Cette étude a également mis en évidence une association avec des ulcérations orales, des arthrites et une alopécie (Fiorentino et al., 2011). Une autre étude s'intéressant aux manifestations cutanées n'a retrouvé qu'une association avec la panniculite (Labrador-Horrillo et al., 2014). Les anti-MDA5 ne semblent pas associés à un risque accru de cancer (Fiorentino et al., 2011; Labrador-Horrillo et al., 2014; Nakashima et al., 2010).

Le phénotype clinique de ces patients semble se rapprocher d'un SAS (pneumopathie interstitielle, arthrite) et leur classification au sein des DM est ouvert à la discussion (Benveniste et al., 2016).

1.2.2.3. Auto-anticorps spécifique de la myosite à inclusions : anti-cN1A

Le premier aAc spécifique de l'IBM a été identifié en 2011 et reconnaît une protéine musculaire de 43 kDa (Salajegheh et al., 2011). Celle-ci a été identifiée simultanément par deux équipes. Il s'agit de la *cytosolic 5'-nucleotidase 1A* (cN1A), une enzyme ayant pour rôle la régulation du stock de nucléoside en catalysant leur hydrolyse, dont au moins deux épitopes sont reconnus aux extrémités N- et C-terminales de la protéine (Larman et al., 2013; Pluk et al., 2013). Selon l'étude, les anti-cN1A sont retrouvés dans 33 à 52% des IBM, dans moins de 5% des PM, DM et maladies neuromusculaires non-auto-immunes et absents des individus sains (Herbert et al., 2016; Kramp et al., 2016; Larman et al., 2013; Pluk et al., 2013; Salajegheh et al., 2011). Leur spécificité est donc moins importante (92 à 98%, Greenberg, 2014; Kramp et al., 2016; Larman et al., 2013) que pour les autres MSA, voire même décevante puisqu'une étude récente les a détectés dans 20% et 36% des patients atteints de syndrome de Sjögren et de LES respectivement (Herbert et al., 2016). La sensibilité est de 34 à 53% et peut même atteindre 70% pour les aAc de haute réactivité (Greenberg, 2014; Kramp et al., 2016; Larman et al., 2013).

Le phénotype des patients présentant des anti-cN1A n'étant pas différent de celui des patients séronégatifs et la spécificité des aAc anti-cN1A étant discutable, leur utilité diagnostique et pronostique est faible (Benveniste et al., 2016).

De façon intéressante, la plupart des ASM sont associés à des signes cliniques particuliers, suggérant une implication dans les mécanismes physiopathologiques. Bien qu'encore incompris, il est remarquable que tant d'aAc ciblent des voies de la synthèse protéique (Tableau 3).

MAI	aAg	Rôle de l'aAg	Fréq (%)	Aspects cliniques	
ASS	AAS	Catalysent l'estérification d'un acide aminé à son ARNt	25-35	Atteinte musculaire, pulmonaire, articulaire et cutanée, syndrome de Raynaud	
	Jo1	Histidyl-	20-30	Atteinte musculaire +, articulaire et cutanée	
	PL7	Tréonyl-	2-5	Atteinte cutanée Péricardite	Atteinte pulmonaire +
	PL12	Alanyl-	2-5	Atteinte cutanée	
	EJ	Glycyl-	2-5	Atteinte cutanée	
	OJ	Isoleucyl-	<2		
	KS	Asparaginyln-	<2		
	Ha	Tyrosyl-	<1		
	Zo	Phénylalanyl-	<1		
DM	Mi2	Modifications des histones, mobilisation du nucléosome, recrutement de protéines (oncogénèse)	10-30	Atteinte cutanée spécifique Bon pronostic	
	TIF1	Facteur de transcription, croissance et différenciation cellulaire, carcinogénèse	13-40 30	Fort sur-risque de cancer Atteinte cutanée grave mais protection contre la calcinose JDM sans sur-risque de cancer	
	NXP2	Régulation de l'activité et de la localisation de p53	1,6-30 23-25	Calcinose, bon pronostic (JDM), contractures musculaires	
	SAE	Modification post-traductionnelle des protéines	1,5-8	Atteinte cutanée initiale puis musculaire Atteinte pulmonaire	
	MDA5	Hélicase, récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires comme l'ADN double brin	12-35	DM amyopathique Atteinte cutanée spécifique Atteinte pulmonaire + Mauvais pronostic	
	IBM	cN1a	Enzyme musculaire de régulation du stock de nucléoside	33-52	Pas d'aspects particuliers

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des auto-antigènes ciblés par les auto-anticorps spécifiques rencontrés au cours des myopathies auto-immunes

Les pourcentages indiqués pour les AAS sont exprimés en fonction des MAI totales, et en fonction du sous-type de MAI pour la DM et l'IBM.

1.2.3. Association d'auto-anticorps au cours des myosites

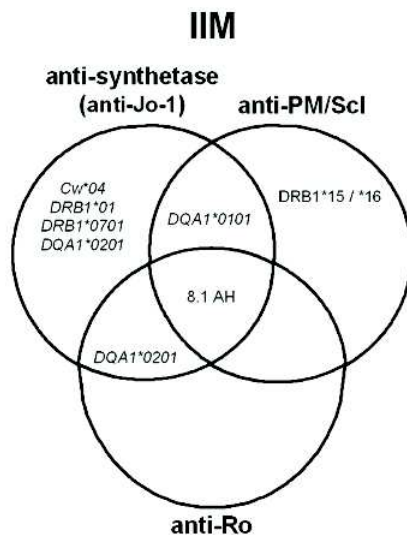
Malgré leur caractère mutuellement exclusif, il arrive que plusieurs ASM soient identifiés chez un même patient, mais ces cas sont très rares et représentent moins de 0,5% (Betteridge et al., 2016; Lega et al., 2014).

Les anti-Mi2 peuvent coexister avec des AAM et notamment les anti-Ro52 jusqu'à 20% des cas (Brouwer et al., 2001; Selva-O'Callaghan et al., 2006). Ils ont également été retrouvés en présence d'anti-AAS comme l'anti-Jo1, d'anti-SAE, ou d'anti-TIF1γ ou anti-NXP2 chez des patients atteints de DM juvénile (Brouwer et al., 2001; Rider et al., 2013; Tarricone et al., 2012), mais aucun phénotype particulier n'a été rapporté chez ces patients. Les anti-TIF1γ ont été détectés chez un patient présentant des anti-MDA5 dans une grande cohorte méditerranéenne de plus de 100 patients (Labrador-Horrillo et al., 2014).

L'association des aAc anti-Jo1 et des anti-Ro52 est fréquente allant de 40 à 71% des patients anti-Jo1 (contre 33-37% des patients non-anti-Jo1) (Brouwer et al., 2001; Cruellas et al., 2013; Frank et al., 1999; La Corte et al., 2006; Marie et al., 2012; Rutjes et al., 1997; Troyanov et al., 2005; Vánca et al., 2010). Elle a été initialement décrite comme associée à une pneumopathie interstitielle et une atteinte musculaire (associée au cancer) plus graves ainsi qu'à une augmentation de l'atteinte articulaire (Marie et al. 2012). Cependant, dans une autre étude, seule l'association à une gravité accrue de la pneumopathie interstitielle a été retrouvée (La Corte et al., 2006). Une étude note même l'absence d'association à une manifestation clinique particulière (Cruellas et al., 2013).

1.3. Facteurs de risque

De nombreux facteurs de risque ont été identifiés pour les MAI, notamment l'haplotype ancestral du CMH 8.1 (HLA-A1, C7, B8, C4AQ0, C4B1, DR3, DQ2, DRB1) qui est associé à de multiples maladies auto-immunes. Des associations entre allèles et aAc sont retrouvées au sein de cet haplotype (Figure 11) (O'Hanlon et al., 2006; Rothwell et al., 2016). Le facteur de risque associé à l'haplotype ancestral 8.1 nécessite cependant la présence de plusieurs allèles (Miller et al., 2015). De multiples associations ont également été retrouvées entre des allèles du CMH n'appartenant pas à l'haplotype ancestral 8.1 et des aAc (Tableau 4) (Chinoy et al., 2009; Gono et al., 2012a; Kishi et al., 2017; Mammen et al., 2012a; Miller et al., 2015; O'Hanlon et al., 2006; Ohnuki et al., 2016).



Auto-anticorps	Allèle associé
anti-Jo1	DRB1*03/DPB1*0101 B*08:01
Anti-PL7	Cw*0304
Anti-Ku	DRB1*11
Anti-PM-Scl	DRB1*03
Anti-Mi2	DRB1*0701 DQA1*0201
Anti-MDA5	DRB1

Tableau 4 : Gènes de susceptibilité associés aux auto-anticorps spécifiques et associés

Figure 11 : Gènes de susceptibilités associés à certains auto-anticorps spécifiques et associés au sein de l'haplotype ancestral

Certains HLA sont associés plus largement avec un sous-type de MAI : HLA-DRB1*03:01 et le diplotype HLA-DRB1*03:01/*01:01 pour l'IBM, influençant la susceptibilité ainsi que le phénotype clinique (progression) (Needham et al., 2008; Rojana-udomsart et al., 2012) et HLA B*08:01 pour la PM (Miller et al., 2015).

Il existe des associations avec d'autres gènes non-HLA, par exemple (i) *STAT4* associé avec les MAI dans la population japonaise (Rothwell et al., 2013), (ii) les allèles polymorphiques des loci des IgGk associés avec des sous-types de MAI définis par l'âge, l'ethnie, les caractéristiques cliniques et les aAc (O'Hanlon et al., 2008), (iii) les polymorphismes des gènes du TNF α et de l'interleukine-1 avec la DM juvénile (Mamyrova et al., 2008). Le gène *PTPN22* (*protein tyrosine phosphatase N22*) et plus particulièrement son variant R620W est un facteur de risque significatif pour les MAI et contrairement à la région HLA, le risque n'est pas augmenté chez les porteurs d'aAc (Chinoy et al., 2008; Maundrell et al., 2017; Rothwell et al., 2016).

Les interactions gène-environnement sont possibles comme HLA-DRB1*03 et le tabagisme chez les patients anti-Jo1⁺ (Rothwell et al., 2013).

1.4. Un cadre nosologique toujours en évolution

Depuis la première description histologique d'une myopathie inflammatoire par Wagner en 1863, l'amélioration de la connaissance des aspects cliniques, histologiques et des aAc

identifiés progressivement ont rythmé les évolutions de la classification. Les termes « polymyosite » et « dermatomyosite » apparaissent dans les années 1860 mais ces entités ne seront considérées comme distinctes qu’avec la classification de Bohan et Peter en 1975 (Tableau 5) (Bohan and Peter, 1975b, 1975a). Cette classification est la première à s’appuyer sur des critères autres que cliniques (histologiques, EMG, enzymes sériques) et distingue 5 groupes.

Type	Nom
I	Polymyosite
II	Dermatomyosite
III	Dermatomyosite (ou polymyosite) associée à un cancer
IV	Dermatomyosite (ou PM) juvénile associée à une vascularite
V	PM ou DM associée à une connectivite

Tableau 5 : Classification des myopathies inflammatoires selon Bohan et Peter

Le diagnostic est fait selon les critères suivants :

- Faiblesse symétrique des muscles de la ceinture et fléchisseurs du cou, dont la progression s’étale sur plusieurs semaines/mois, avec ou sans dysphagie ou atteinte respiratoire
- Biopsie révélatrice de nécrose, phagocytose, régénération, anomalies du noyau, atrophie périfasciculaire, variation de la taille des fibres, infiltrat inflammatoire (souvent périvasculaire)
- Enzymes musculaires élevées, particulièrement la CK
- Triade électromyographique : potentiels moteurs courts et polyphasiques, fibrillations et décharges de haute fréquence
- Atteinte cutanée comprenant un rash héliotrope, une dermatite érythémateuse des mains, et touchant les genoux, coudes, chevilles, face, cou et torse

Le nombre de critères rencontrés définit le caractère définitif (PM : 4, DM : 3-4 +rash), probable (PM : 3, DM : 2 +rash) ou possible (PM : 2, DM : 1 +rash) de la myosite.

Malgré de nombreuses remises en question, notamment concernant l’IBM distinguée des PM et DM en 1978 (Carpenter et al., 1978), cette classification sera considérée comme la référence pendant près de 30 ans. Aujourd’hui elle demeure utile pour le diagnostic de DM car elle n’impose pas la réalisation d’une biopsie.

Dès 1991, Love et al. proposent l'utilisation des aAc pour classifier les patients atteints de myosite. En effet, la subdivision clinique des MAI donnant lieu à des groupes hétérogènes, ils démontrent au cours d'une étude que les ASM définissent des groupes plus distinctifs et homogènes en termes de présentation clinique, immunogénétique et pronostique (Love et al., 1991).

Au fil des études et des découvertes relatives aux MAI, la PM s'avère être de moins en moins fréquente, jusqu'en 2003 où l'on va jusqu'à la comparer aux licornes, dragons et autres bêtes mythologiques (Amato and Griggs, 2003), pour exprimer de façon imagée que la PM a longtemps été sur-diagnostiquée. En effet, une étude rétrospective par van der Meulen compare la distribution des patients au sein des sous-types de MAI selon la classification de Bohan et Peter ou les critères de l'époque incluant une étude histopathologique approfondie et la présence d'aAc. Il en ressort que la PM est sur-diagnostiquée, ne représentant que 5% des cas, au détriment des myosites associées aux maladies systémiques, du SAS, des DM *sine dermatitis* (cas rare au cours duquel l'histologie est caractéristique de la DM mais sans atteinte cutanée), et des myopathies nécrosantes par exemple (van der Meulen et al., 2003).

Une nouvelle classification de référence est élaborée en 2004 par une assemblée multidisciplinaire d'experts lors de la 119^{ème} réunion de l'ENMC. Les critères élaborés distinguent IBM, PM, DM, myosite non-spécifique et MNAI, chacune à l'exception de l'IBM pouvant être associée à une maladie systémique ou un cancer. Cette classification marque surtout la reconnaissance des MNAI comme sous-type à part entière (Tableau 6, Tableau 7) (Hoogendijk et al., 2004).

1) Critères cliniques	
Inclusion - Apparition après 18 ans (post-puberté), possible dans l'enfance pour la DM et la myosite non-spécifique - Apparition subaiguë ou progressive - Déficit musculaire symétrique proximal > distal, fléchisseur cou > extenseur cou - Rash typique de la DM	Exclusion - Caractéristiques de l'IBM (Griggs et al., 1995) - Trouble oculomoteur, dysarthrie isolée, déficit extenseur > fléchisseur du cou - Myopathie toxique, endocrinopathie active, amyloïdose, histoire familiale de dystrophie ou de neuropathie motrice proximale
2) Critère sérologique : taux de CK élevé	
3) Critères paracliniques	
- EMG : syndrome myogène - IRM : signal augmenté diffus ou focal dans le tissu musculaire révélateur d'œdème - Présence d'ASM	
4) Critères histologiques	
a. Infiltrat inflammatoire de LT entourant et envahissant les fibres musculaires non-nécrotiques (FNN) b. LT CD8 endomysiaux entourant mais n'envahissant pas les FNN, expression ubiquitaire du CMH-I c. Atrophie périfasciculaire d. Dépôts de C5b-9 sur les capillaires, densité réduite des capillaires, ou inclusions tubuloréticulaires dans les cellules endothéliales, ou expression du CMH-I sur les fibres périfasciculaires e. Infiltrat inflammatoire péri-vasculaire, périmysial f. Infiltrat endomysial épars de LT CD8 qui n'entoure/envahi pas clairement les fibres musculaires g. Nombreuses FNN en caractéristique prédominante. Cellules infiltrantes rares (périvasculaires), infiltrat périmysial non-évident. Dépôts de C5b-9 sur les capillaires ou capillaires en tuyau de pipe mais inclusions tubuloréticulaires dans les cellules endothéliales rares h. Vacuoles bordées, fibres rouges déchirées, fibres COX-négatives qui suggèrent une IBM i. Dépôts de C5b-9 sur le sarcolemme de FNN et autres indications de dystrophies musculaires avec immuno-pathologie	

Tableau 6 : Composants des critères de classification des myopathies inflammatoires

Adapté de Hoogendijk et al. 2004

		Clinique	CK	Paraclinique	Histologique
PM	Définitive	Tous sauf rash	Élevé		Inclus a Exclus c, d, h, i
	Probable	Tous sauf rash	Élevé	1 sur 3	Inclus b Exclus c, d, g, h, i
DM	Définitive	Tous			Inclus c
	Probable	Tous	Élevé, ou...	...1 sur 3, ou...	...inclus d ou e
	Amyopathique	Rash sans déficit musculaire	Normal	EMG normal	Caractéristiques différentes des autres DM Biopsie de peau*
	Sine dermatitis	Tous sauf rash	Élevé	1 sur 3	Inclus c ou d
MNS		Tous sauf rash	Élevé	1 sur 3	Inclus e ou f Exclus tous les autres
MNAI		Tous sauf rash	Élevé	1 sur 3	Inclus g Exclus tous les autres

Tableau 7 : Critères de classification des myopathies inflammatoires

**La biopsie de peau présente une densité capillaire réduite, des dépôts de C5b-9 sur les capillaires le long de la jonction dermo-épidermale et une décoration variable des kératinocytes par le C5b-9. Adapté de Hoogendijk et al. 2004.*

Concernant l'IBM, la classification de l'ENMC se base sur la définition de Griggs de 1995 (Tableau 8).

1) Critères cliniques
- Durée de la maladie >6 mois - Début de la maladie après 30 ans - Déficit musculaire proximal et distal des bras et jambes et un déficit dans un des muscles ci-dessous : • Fléchisseurs des doigts • Fléchisseurs > extenseurs du poignet • Quadriceps
2) Critères paracliniques
- Taux de CK <12 fois supérieur à la normale - Biopsie musculaire • Myopathie inflammatoire caractérisée par une invasion des fibres non-nécrotiques par des cellules mononuclées • Vacuoles dans les fibres musculaires • Dépôts amyloïdes intracellulaires <u>ou</u> tubulofilaments de 15-18nm - Tracé myogène à l'EMG
3) Diagnostic
- IBM définitive : présence de tous les critères de la biopsie. Aucun des autres critères (para-)cliniques n'est indispensable si la biopsie est caractéristique - IBM probable : présence d'inflammation et fibres vacuolées à la biopsie <u>mais</u> absence des dépôts amyloïdes ou des tubulofilaments, <u>alors</u> le diagnostic d'IBM peut être posé si le patient présente tous les autres critères

Tableau 8 : Critères de classification des IBM
Adapté de Griggs et al. 1995

En 2005, une autre étude rétrospective similaire à celle de van der Meulen a été réalisée sur 100 patients Canadiens selon une nouvelle classification clinico-sérologique basée sur les critères de Bohan et Peter (Trojanov et al., 2005). Celle-ci met l'accent sur les myosites de chevauchement ainsi que la présence d'ASM mais n'apporte pas de changement concernant les critères histologiques, malgré les travaux approfondis de Dalakas sur le sujet (Dalakas, 1991; Dalakas and Hohlfeld, 2003), considérant à tort la DM comme une PM accompagnée d'un rash. Quatre entités sont ainsi définies :

- PM
- DM
- Myosite de chevauchement : myosite avec au moins 1 caractéristique clinique de chevauchement* et/ou un aAc de chevauchement**
- Myosite associée à un cancer***, sans aAc de chevauchement ou anti-Mi2

*Caractéristiques cliniques de chevauchement : polyarthrite, phénomène de Raynaud, sclérodactylie, sclérodermie, calcinose des doigts, hypomobilité intestinale, DLCO<70%, pneumopathie interstitielle, lupus

discoïde, anticorps anti-ADN natif et hypocomplémentémie, 4 ou plus des 11 critères de l'*American College of Rheumatology* pour le lupus érythémateux disséminé, syndrome des anti-phospholipides

**aAc de chevauchement (anti-synthétase : Jo1, PL-7, PL-12, OJ, EJ, KS), aAc associés à la sclérodermie (spécifiques : centromères, topo-I, RNA-polymérase I ou III, Th ; et associés : U1RNP, U2RNP, U3RNP, U5RNP, Pm-Scl, Ku) et autres aAc (SRP, nucléoporeine).

***Cancer dans les 3ans précédant/suivant le diagnostic de myosite, absence de caractéristiques de chevauchement, et disparition de la myosite en cas de guérison du cancer.

Sur la même cohorte, cette équipe améliore sa classification des DM en les divisant en DM pure et DM avec caractéristiques de myosite de chevauchement en se basant sur les caractéristiques cliniques, sérologiques (CK et aAc), histologiques (améliorées depuis 2005), la présence de cancer et l'évolution des patients (Trojanov et al., 2014). En 2017, le même groupe propose une classification globale donnant toujours une grande part aux myosites de chevauchement en y incluant le SAS, les patients présentant des aAc anti-nucléaires, les anti-MDA5 et les syndromes de chevauchement avec rash typique de la DM (Senécal et al., 2017).

Au cours des dernières années, plusieurs propositions de classification ont été publiées, incluant invariablement IBM, DM, SAS, PM et MNAI. Celles-ci sont agrémentées ou non de 3 sous-types supplémentaires : myosite associée au cancer, myosite de chevauchement et non-spécifique (les myosite de chevauchement pouvant inclure les non-spécifiques ou inversement selon la classification) (Allenbach et al., 2017; Dana Mandel et al., 2017; Mammen, 2016). Il est désormais admis que le diagnostic de PM est rare et ne doit être posé que lorsque tous les autres sont exclus. Malgré ces efforts d'amélioration de la classification, de nombreux articles se basent encore sur la classification historique bien que largement obsolète de Bohan et Peter.

Il ressort de ces études que la classification doit être basée sur des critères cliniques, histologiques et sérologiques. Ceux-ci sont complémentaires et doivent tous être pris en compte pour classer les patients. Un tableau récapitulatif des critères diagnostiques des MAI est présent à la fin de

l'Article N°1 (p56)

2. Myopathies nécrosantes auto-immunes : émergence d'une nouvelle entité

Article N°1

Immune-mediated necrotizing myopathies

Published in Zeitschrift für Rheumatologie

C. Bergua^{1,2}, H. Chiavelli^{1,2}, J. P. Simon³, O. Boyer^{1,2,4}, F. Jouen^{1,4}, W. Stenzel⁵,

J. Martinet^{1,2,4}

¹ Normandie University, IRIB, Rouen, France

² INSERM, U905, Rouen, France

³ Department of Neuropathology, Caen University Hospital, Caen, France

⁴ Department of Immunology, Rouen University Hospital, Rouen, France

⁵ Department of Neuropathology, Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

La description des MNAI a fait l'objet en 2016 d'une revue de la littérature dans laquelle j'ai mis en avant les caractéristiques épidémiologiques, physiopathologiques, cliniques ainsi que les traitements utilisés au cours des MNAI. Il est à noter que certains pourcentages, notamment ceux relatifs au nombre de patients séronégatifs, ont évolués depuis la publication de cette revue. Il est donc possible que des chiffres diffèrent entre la revue et les données exposées par la suite.

Z Rheumatol 2016 · 75:151–156
 DOI 10.1007/s00393-015-0029-3
 Published online: 18 January 2016
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Redaktion
 B. Manger, Erlangen
 B. Swoboda, Erlangen



CrossMark

C. Bergua^{1,2} · H. Chiavelli^{1,2} · J. P. Simon³ · O. Boyer^{1,2,4} · F. Jouen^{1,4} · W. Stenzel⁵ · J. Martinet^{1,2,4}

¹ Normandie University, IIRB, Rouen, France

² INSERM, U905, Rouen, France

³ Department of Neuropathology, Caen University Hospital, Caen, France

⁴ Department of Immunology, Rouen University Hospital, Rouen, France

⁵ Department of Neuropathology, Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

Immune-mediated necrotizing myopathy

Immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM) is a recently defined subgroup of idiopathic inflammatory myopathies (IIMs), with characteristic histological features. However, the pathophysiological mechanisms of this disease are poorly understood, and therapeutic strategies for treating patients have not yet been validated.

IIMs are rare and severe diseases. They comprise inclusion body myositis (IBM), antisynthetase syndrome (ASS), polymyositis (PM), dermatomyositis (DM), overlap syndrome, and the newly identified IMNM subgroup, also known as necrotizing autoimmune myopathy (NAM; [1, 2, 3]).

Histologically, IMNM is defined by the presence of myofiber necrosis and prominent regeneration, combined with a paucicellular lymphocytic infiltrate [3, 4]. Disease onset can be acute or progressive, with symmetrical and proximal muscle weakness, elevated creatine kinase (CK), and a myogenic pattern in electromyography [5].

The autoimmune characteristic of IMNM has been suggested by its frequent association with autoantibodies. Anti-signal recognition particle (SRP) autoantibodies were the first to be described [6]. Anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme-A reductase (HMGCR) autoantibodies were identified later [3], and there are probably about 30–40 % of IMNM patients without any known autoantibody.

Epidemiology

The incidence of IIM in a homogenous population is 2.2–7.7 per million [7], and IMNM, which is considered a rare disease, accounts for around 20 % of IIMs. Specific autoantibodies are found in two thirds of IMNM patients [3]. Despite cases of IMNM in children [8], it mainly affects adults, with a female predominance [4, 9–11].

Anti-SRP associated IMNM represents 3–6 % of IIM, with an age of onset of about 47 years in European patients [4]. Anti-HMGCR antibodies are found in 5–7 % of patients with IIM. According to a recent study on 206 European patients with a suspicion of IMNM, the age of onset was 49 years [12]. HLA-DRB1*11:01 is associated with an increased risk of developing anti-HMGCR IMNM in white and African Americans [13]. Statin use has been found to be associated with the development of anti-HMGCR IMNM in all populations studied, as 37.5 to 94 % of patients were

exposed to this drug family (■ Tab. 1). In this case, the age of onset is older (64 years; [12]). Since statins may be present in food or dietary supplements, some patients may be unaware of having been exposed.

Pathophysiology

The pathophysiology of IMNM is still poorly described, with a lack of reliable animal models to improve our understanding of the disease. An undeniable fact is that IMNM is associated with autoantibodies: anti-SRP [6] and, as more recently described, anti-HMGCR [3], which suggests an autoimmune mechanism for this disease. Anti-HMGCR autoantibodies were not found in a large cohort of healthy and statin-exposed patients, indicating their specificity for IMNM and allowing differentiation of statin-associated autoimmune myopathy from a toxic form of statin side effects [18]. However, despite the presence of autoantibodies, inflammatory infiltrates

Tab. 1 Percentage of statin exposure in anti-HMGCR-associated immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM) patients

Study	Country	Number of IMNM patients	Statins exposure (%)
Christopher-Stine, 2010 [3]	USA	16	63
Mammen, 2011 [14]	USA	45	67
Werner, 2012 [15]	USA	55	72.6
Allenbach, 2014 [12]	France	45	44
Limaye, 2014 [16]	Australia	19	94 (data available for 17)
Watanabe, 2015 [17]	Japan	8	37.5

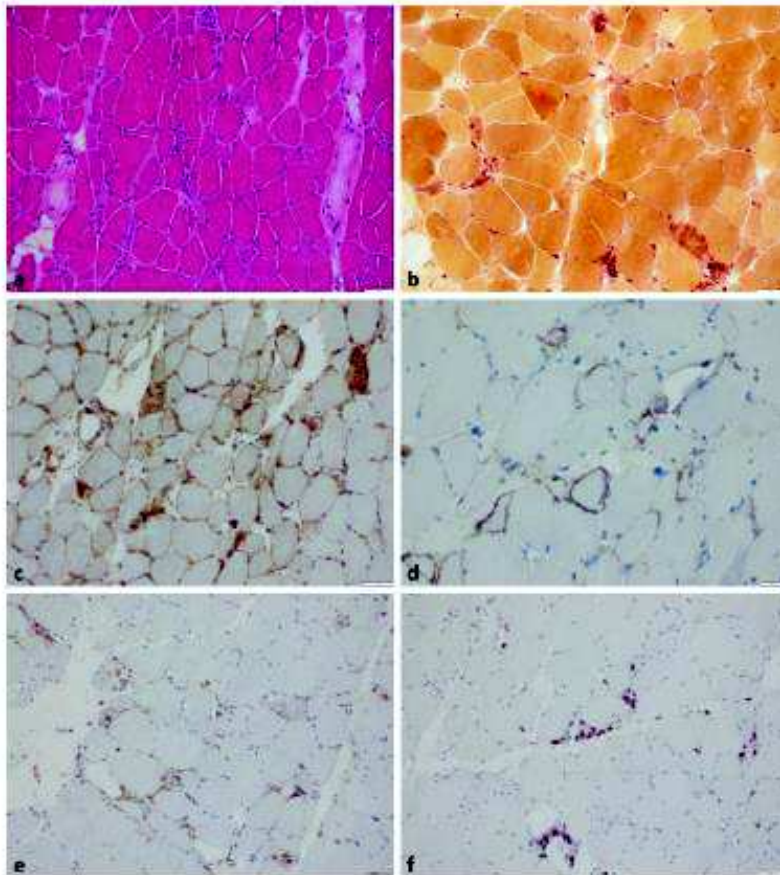


Fig. 1 ▲ Muscle biopsy pattern in immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM) patients. H&E staining illustrates necrotic and regenerating fibers with a diffuse distribution (a), while nonspecific esterase highlights myophagocytosis (b). MHC class I is expressed on the sarcolemma of numerous myofibers with variable intensity (c). Complement (C5b9) is positive on the sarcolemma of numerous fibers (d). CD68-positive macrophages can be identified in the fibers undergoing myophagocytosis (e) and CD8-positive lymphocytes are occasionally detected endomysially and close to necrotic fibers (f)

are generally not prominent. Mechanisms other than cellular cytotoxicity might be more relevant for explaining the pathophysiology of IMNM.

IMNM histology is characterized by the presence of necrotic and regenerating myofibers in all patient muscle biopsies. Necrotic myofibers are phagocytosed by macrophages (■ Fig. 1a, b; [11, 19]), which nearly constitute the only inflammatory infiltrate [3, 4, 11]. A mild lymphocytic infiltrate is more common in anti-HMGCR than in anti-SRP patients, with the presence of CD4 and CD8 T-cells (50 % of subjects), CD20 B-cells (17 %), and dendritic cells restricted to the perivascular and/or endomysium regions (■ Fig. 1e, f; [19]). Atrophic and

irregularly shaped myofibers are present in all cases [4, 19, 20]. As opposed to other IIMs, reexpression of major histocompatibility complex class I (MHC-I) by myofibers is mild, if present, and scattered (■ Fig. 1c). C5b9 staining reveals membrane attack complex (MAC) deposits on necrotic myofibers, sarcoplasm of myofibers, and some capillaries (■ Fig. 1d). The presence of MAC deposits on non-necrotic myofibers was only shown in anti-HMGCR-associated IMNM [3, 19]. Capillaries were shown to have an increased diameter [3, 4, 11]. For anti-SRP-associated-IMNM exclusively, a reduction in endomysial capillary density was observed [11].

The pathophysiological role of IMNM-associated autoantibodies is not yet well understood. Anti-HMGCR autoantibodies are directed against the catalytic domain of HMGCR, an enzyme resident in the membrane of the endoplasmic reticulum. Notably, HMGCR is involved in cholesterol biosynthesis and is inhibited by statins [14]. Anti-SRP autoantibodies recognize the 54 kDa subunit of the SRP complex. SRP is localized on the surface of the endoplasmic reticulum and is involved in targeting proteins to this cellular compartment. Anti-SRP autoantibodies were shown to be able to directly inhibit this mechanism [21]. HMGCR and SRP are intracellular proteins, raising the question of autoantibody target accessibility to the immune system. However, a direct pathogenic implication has been suggested by the correlation between levels of autoantibodies and disease activity, as evaluated by muscle strength and CK levels [12, 14, 15]. Indeed, the near lack of inflammatory infiltrate, as well as mild MHC-I staining by non-necrotic and non-regenerating myofibers, points towards a humoral immune response leading to antibody-dependent complement-mediated lysis of myofibers [22].

Different methods have been used to detect anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies: immunoprecipitation and immunodot for qualitative detection, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), chemiluminescence, or addressable laser bead immunoassay (ALBIA) for quantitative measurement. Of interest, indirect immunofluorescence (IFI) staining of Hep-2 cells can provide information on the presence of these autoantibodies. Indeed, anti-HMGCR-positive sera displays a finely granular and reticular cytoplasmic pattern (generally weak) in a minority (3 % or less) of Hep-2 cells (the sensitivity of the IFI cytoplasmic pattern varies from 30 to 60 %, dependent on the commercially available Hep-2 cells used; ■ Fig. 2a). Anti-SRP-positive sera display a generally intense, dense finely granular cytoplasmic pattern, which is seen on all cells and resembles an anti-ribosomal pattern (■ Fig. 2b).

One third of IMNM patients do not display known specific autoantibodies [3]. These patients may have as-yet unknown autoantibodies that remain to be discovered.

Clinical features

Clinically, IMNM is characterized by severe symmetrical and proximal muscle weakness, leading to muscle atrophy. Disease activity is mirrored by muscle strength. CK levels may be dramatically elevated (4000 to 13,000 U/l), and reflect the degree of muscle cytolysis [23]. CK levels may be used for disease follow-up with some caution, as their correlation with muscle strength in IMNM has not been fully demonstrated [12, 24]. Onset can be acute (days to weeks) or subacute (< 6 months). Electromyography shows myogenic features (myogenic motor unit potentials, increased spontaneous activity with fibrillation complexes, myotonic discharges), and an electrocardiogram is sometimes abnormal (< 20 %; [1, 5]). IMNM can be associated with dysphagia, dyspnea, interstitial lung disease, and Raynaud syndrome to variable extents [3, 4, 9, 11, 12, 20, 25]. Disease onset may be progressive (several months to years; [12]), with a risk of IMNM misdiagnosis as muscular dystrophy, depriving the patient of suitable treatment. However, IMNM is associated with specific autoantibodies in two thirds of cases, and their discovery is key to diagnosis, allowing confusion between IMNM and muscular dystrophy to be avoided. Hence, few cases of double trouble have been reported [26]. Clinical evolution and prognosis seems similar for both autoantibodies (anti-HMGCR, anti-SRP). Diagnostic criteria are summed up in **Tab. 2**, along with the other subtypes of IIM for comparison (according to recent publications, we chose to distinguish antisynthetase syndrome as an individual myositis subtype; [1, 27–30]).

As a group, anti-HMGCR-positive statin users and non-statin-users are similar, except for possibly higher CK levels in the former [14].

The first association between cancer and necrotizing myopathy was observed in 1969 [32]. Since then, several cases

Abstract · Zusammenfassung

Z Rheumatol 2016 · 75:151–156 DOI 10.1007/s00393-015-0029-3
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

C. Bergua · H. Chiavelli · J. P. Simon · O. Boyer · F. Jouen · W. Stenzel · J. Martinet

Immune-mediated necrotizing myopathy

Abstract

Background. Immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM) is a newly identified subgroup of idiopathic inflammatory myopathies. It is defined as a rare and severe disease, with symmetrical and proximal muscle weakness and a characteristic histology. An autoimmune aspect of IMNM is suggested by its association with autoantibodies directed against signal recognition particle (SRP) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR) in the majority of patients. Statin use is strongly associated with anti-HMGCR-positive IMNM. The pathophysiological mechanisms of this disease are still poorly understood, and as a result, no therapeutic strategy has been validated to date.

Objective. The aim of this article is to provide an overview of the current knowledge about epidemiology, clinical features, and pathophysiology of IMNM, as well as treatment strategies.

Results and conclusion. IMNM is a subject of widespread interest, with quick and meaningful advances being made. In recent years, huge progress has been made in terms of diagnosis and patient management. However, the understanding of pathophysiological mechanisms and treatment strategies still requires further investigation.

Keywords

Pathophysiology · Autoantibodies · Autoimmune disease · Statins · Myositis

Immunvermittelte nekrotisierende Myopathie

Zusammenfassung

Hintergrund. Immunvermittelte nekrotisierende Myopathie (IMNM) ist eine neu identifizierte Untergruppe der idiopathischen entzündlichen Myopathien. Sie ist als seltene und schwere Erkrankung mit symmetrischer und proximaler Muskelschwäche und einer charakteristischen Histologie definiert. Auf einen Autoimmunaspekt von IMNM weist ihre Verbindung mit Autoantikörpern hin, die sich bei der Mehrheit der Patienten gegen die Signalerkennungspartikel (SRP) und 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMGCR) richten. Statingebrauch steht in enger Verbindung mit Anti-HMGCR-positiver IMNM. Das Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen dieser Erkrankung ist bislang nur dürftig, weshalb bis jetzt keine therapeutische Strategie anerkannt ist.

Ziel. Das Ziel dieses Artikels ist es, einen Überblick über das derzeitige Wissen hinsichtlich Epidemiologie, klinischer Merkmale und der Pathophysiologie von IMNM sowie zu Behandlungsstrategien zu liefern.

Ergebnisse und Schlussfolgerung. IMNM ist Gegenstand breiten Interesses, wobei schnelle und bedeutsame Fortschritte gemacht werden. In den vergangenen Jahren gab es enorme Entwicklungen bei der Diagnose und im Patientenmanagement. Das Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen und Behandlungsstrategien erfordert allerdings weitere Forschung.

Schlüsselwörter

Pathophysiologie · Autoantikörper · Autoimmunerkrankung · Statine · Myositis

of paraneoplastic necrotizing myopathies have been described [22, 33]. These studies did not show differential clinical or histological features as compared to classical IMNM. Some patients with anti-HMGCR autoantibodies have been described with cancer that occurred before or after IMNM diagnosis. Malignancy might be associated with the myopathy, although this requires further evaluation [3, 12].

Treatment

Because of the lack of controlled randomized clinical trials, there is no validated therapeutic strategy for IMNM. The first line of treatment includes corticosteroid therapy e.g., prednisone (1 mg/kg; [5]). However, prednisone monotherapy is not sufficient to control disease in most patients and is generally combined with steroid-sparing immunosuppressants

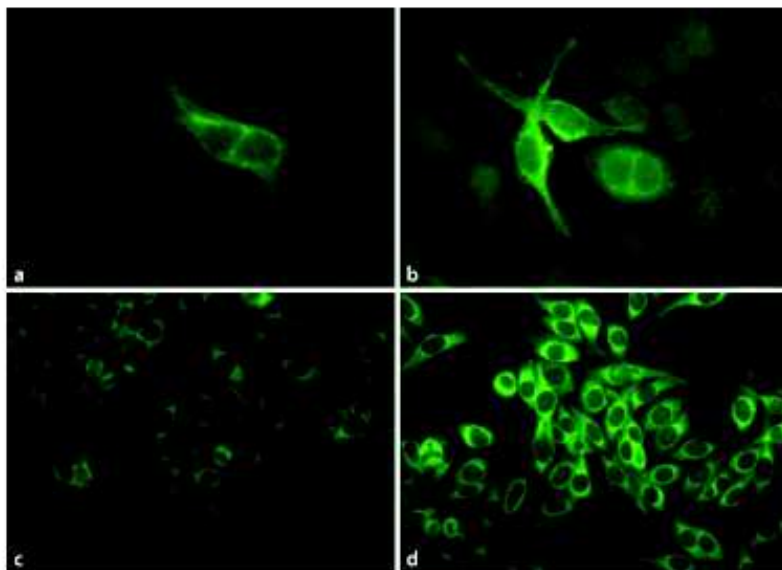


Fig. 2 ▲ Pattern of immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM) autoantibodies on HEp-2 cells, illustrated by indirect immunofluorescence (IFI). a Anti-HMGCR autoantibodies, magnification x200; b Anti-SRP autoantibodies, magnification x100

(IS; [3, 4, 15, 20]). Indeed, it is globally accepted that IMNM requires early, extensive immunosuppressive management, and a Mayo Clinic team recently even recommended initiation of IMNM treatment with a tritherapy including corticosteroids, IS, and intravenous immunoglobulins (IVIg; [34]). Others use even more aggressive immunosuppressive drugs, with cyclophosphamide at least as an induction treatment for 6 months (800 mg/m² each month), but evidence of its efficiency is yet to be demonstrated. ISs are usually methotrexate, azathioprine, or cyclosporine [34]. If the patient develops an interstitial lung disease, tacrolimus and cyclophosphamide can be used. In general, corticosteroid therapy is tapered after 3 to 4 weeks, depending on the patient's status [35]. In IS-resistant IMNM, other therapeutic options can be helpful, i.e., IVIg or plasmapheresis, with the latter having a faster activity [1, 3, 4]. In a study on anti-SRP-associated IMNM, the use of rituximab on patients unresponsive to IS led to a dramatic and sustained clinical improvement, with decreased CK and autoantibody levels, and decreased corticosteroid treatment [36]. Rituximab was also shown to be help-

ful in anti-HMGCR-associated IMNM [3]. Cyclophosphamide could be also used in secondary deterioration [37]. The efficiency of rituximab, IVIg, and plasma exchange seems to corroborate the implication of autoantibodies in the pathophysiology of IMNM.

If IMNM is due to an underlying cause such as cancer, treatment of this cause must be of priority before specific IMNM treatment. Indeed, resection of the tumor may be sufficient to terminate the disease [32].

In statin-associated-IMNM with anti-HMGCR autoantibodies, statin treatment must be immediately discontinued [38]. Statin-exposed patients seem to demonstrate a better response to treatment as compared to non-statin-exposed patients. Prednisone associated to one IS was sufficient in 40 % of statin-exposed patients, as compared to 25 % in statin-unexposed patients. At the end of the study, the prednisone dose was lower in statin-exposed patients and 16 % were even tapered off IS [15].

Usually, disease evolution is assessed by muscular strength and CK level. Follow-up of autoantibody levels, which are suggested to have a pathogenic role, could allow more specific evaluation of

the evolution of disease and the efficacy of therapeutics [36]. Indeed, we have demonstrated that anti-SRP levels were strongly linked to clinical evolution [24]. Despite the lack of validated therapeutic strategies which require adaption of the treatment from patient to patient, studies demonstrate a fairly good clinical recovery, with improvement of strength, decrease in CK levels, and decrease in IS doses [3, 4, 20]. However, due to high relapse rates (40–70 %), IS and prednisone are seldom tapered [3, 4].

Conclusion

IMNM/NAM is a relatively recently defined entity, although it was described anecdotally earlier on. Its histological pattern associates the presence of necrotic and regenerating myofibers, and lymphocytic infiltrates are often limited or even absent. Patients present a heterogeneous range of symptoms and respond variably to therapy. There is still a lot to be discovered, especially regarding pathophysiology and the role of autoantibodies, as well as in terms of a validated therapeutic strategy. In addition, one third of patients do not display known IMNM-specific autoantibodies. The identification of new autoantibodies in these patients could significantly simplify IMNM diagnosis and further our comprehension of the disease. Assaying anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies is useful, particularly in cases of progressive onset, to eliminate muscular dystrophy and initiate an appropriate immunosuppressive treatment. Some anti-HMGCR IMNM cases are associated with the use of statins, but the absence of statin use should not rule out the possibility of IMNM.

Corresponding address

J. Martinet

Department of Immunology, Rouen University Hospital
22 bd Gambetta, 76000 Rouen, France
Jeremie.Martinet@chu-rouen.fr

Tab. 2 Diagnosis criteria of inflammatory myopathies						
Criterion	Pattern of muscle weakness	CK level	Electro-myography	Muscle biopsy	Autoantibodies	MRI
Necrotizing autoimmune myositis	Acute or subacute onset of proximal and severe weakness in adults Rare in children	Very high; more than 50 times the upper limit of normal in early active disease	Active myopathic units	Prominent regenerating and necrotic fibers with macrophages; sometimes mild lymphocytic infiltrate; deposits of C5b9 on capillaries, sarcolemma of myofibers, and necrotic myofibers	Anti-SRP and anti-HMGCR, specific for necrotizing autoimmune myositis, or no autoantibodies (30 %)	May show active inflammation; could guide biopsy site
Dermatomyositis	Subacute onset of proximal symmetric weakness with characteristic skin rash in patients of any age (divided clinically into juvenile- and adult DM)	High, up to 50 times the upper limit of normal; can at times be normal	Myopathic units (active and chronic)	Perivascular, perimysial, and perifascicular inflammation; perifascicular atrophy; reduced capillaries with C5b9 deposits Undulating tubules in endothelia by EM	Anti-MDA-5, anti-Mi-2; anti-SAE, anti-TIF-1γ and anti-NXP-2 (the latter two are implicated in cancer associated DM in adults) NXP2 is associated with calcinosis in children	May show active inflammation could guide biopsy site
Polymyositis	Subacute onset of proximal symmetric weakness in adults (diagnosis is made when other causes have been ruled out) Rare (< 5 %)	High, up to 50 times the upper limit of normal in early active disease; may linger at up to 10 times the upper limit of normal	Myopathic units (active and chronic)	Endomysial inflammatory infiltrate invading non-necrotic myofibers; widespread reexpression of MHC class I; no vacuoles; ruling out inflammatory dystrophies	Previously associated with antisynthetase antibodies; can be associated with anti-SRP (4 %) or myositis-associated antibodies	May show active inflammation; could guide biopsy site
Antisynthetase syndrome	Acute or subacute onset of proximal muscle weakness in adults	High, 5–50 times the upper limit of normal; can be normal in chronic and advanced disease	Myopathic units (active and chronic)	Perimysial inflammation (predominantly macrophages) and connective tissue fragmentation, perifascicular atrophy, strong HLA-DR expression, C5b9 deposits on sarcolemma in perifascicular regions, very prominent necrosis and regeneration in perifascicular regions Nuclear actin aggregates	Anti-synthetase antibodies associated with interstitial lung disease, multiple organ involvement, arthritis, Raynaud's phenomenon, fever, and "mechanic's hands"	May show active inflammation; could guide biopsy site
Inclusion-body myositis	Slow onset of proximal and distal weakness; marked weakness and atrophy of quadriceps and finger flexors; frequent falls; dysphagia and mild facial muscle weakness in people older than 50 years of age (never in children)	Up to 10 times the upper limit of normal; can be normal or slightly elevated	Myopathic units (active and chronic) with some mixed large-size potentials	Specific inflammatory infiltrate; widespread sarcolemmal staining with MHC class I antigen; rimmed vacuoles, ragged-red or ragged-blue fibers; amyloid deposits, deposits of molecules/markers of autophagy	Anti-cN1A (of uncertain pathologic significance)	Shows selective muscle involvement, but might be difficult to distinguish atrophy from chronic inflammation

CK creatine kinase, MRI magnetic resonance imaging, DM dermatomyositis, EM electron microscopy, Anti-MDA-5 anti-melanoma differentiation-associated gene 5, Anti-SRP anti-signal recognition particle, anti-HMGCR anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, anti-TIF-1γ anti-transcription intermediary factor 1γ, anti-NXP-2 anti-nuclear matrix protein 2, MHC major histocompatibility complex, HLA human leukocyte antigen, Anti-cN1A cytoplasmic 5'-nucleotidase 1A

Compliance with ethical guidelines

Conflict of interest. C. Bergua, H. Chiavelli, J.P. Simon, O. Boyer, F. Jouen, W. Stenzel, and J. Martinez state that there are no conflicts of interest.

The accompanying manuscript does not include studies on humans or animals.

References

1. Dalakas MC (2015) Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med* 372:1734–1747
2. Hoogendijk JE et al (2004) 119th ENMC International workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10–12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 14:337–345
3. Christopher-Stine L et al (2010) A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum* 62:2757–2766
4. Hengstman GJD et al (2006) Anti-signal recognition particle autoantibodies: marker of a necrotizing myopathy. *Ann Rheum Dis* 65:1635–1638
5. Liang C, Needham M (2011) Necrotizing autoimmune myopathy. *Curr Opin Rheumatol* 23:612–619
6. Reeves WH, Nigam SK, Blobel G (1986) Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9507–9511
7. Mastaglia FL, Phillips BA (2002) Idiopathic inflammatory myopathies: epidemiology, classification, and diagnostic criteria. *Rheum Dis Clin North Am* 28:723–741
8. Rouser-Stevens KA, Pachman LM (2008) Autoantibody to signal recognition particle in African American girls with juvenile polymyositis. *J Rheumatol* 35:927–929
9. Alshehri A, Choksi R, Bucelli R, Pestronk A (2015) Myopathy with anti-HMGCR antibodies: Perimysium and myofiber pathology. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2:e124
10. Drouot L et al (2014) Exploring necrotizing autoimmune myopathies with a novel immunoassay for anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 16:R39
11. Miller T, Al-Lozi MT, Lopate G, Pestronk A (2002) Myopathy with antibodies to the signal recognition particle: clinical and pathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73:420–428
12. Allenbach Y et al (2014) Anti-HMGCR autoantibodies in European patients with autoimmune necrotizing myopathies: Inconstant exposure to statin. *Medicine (Baltimore)* 93:150–157
13. Mammen AL et al (2012) Increased frequency of DRB1*11:01 in anti-hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Care Res* 64:1233–1237
14. Mammen AL et al (2011) Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* 63:713–721
15. Werner JL et al (2012) Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* 64:4087–4093
16. Limaye V et al (2014) Clinical and genetic associations of autoantibodies to 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with immune-mediated myositis and necrotizing myopathy. *Muscle Nerve* 52(2):196–203. doi:10.1002/mus.24541
17. Watanabe Y et al (2015) Statins and myotoxic effects associated with anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase autoantibodies: an observational study in Japan. *Medicine (Baltimore)* 94:e416
18. Mammen AL et al (2012) Rarity of anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase antibodies in statin users, including those with self-limited musculoskeletal side effects. *Arthritis Care Res* 64:269–272
19. Chung T, Christopher-Stine L, Paik JJ, Corse A, Mammen AL (2015) The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve* 52(2):189–195. doi:10.1002/mus.24642
20. Kao AH, Lacomis D, Lucas M, Fertig N, Oddis CV (2004) Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum* 50:209–215
21. Römisch K, Miller FW, Dobberstein B, High S (2006) Human autoantibodies against the 54 kDa protein of the signal recognition particle block function at multiple stages. *Arthritis Res Ther* 8:R39
22. Bronner IM et al (2003) Necrotizing myopathy, an unusual presentation of a steroid-responsive myopathy. *J Neurol* 250:480–485
23. Iaccarino L et al (2014) Assessment of patients with idiopathic inflammatory myopathies and isolated creatine-kinase elevation. *Auto Immun Highlights* 5:87–94
24. Benveniste O et al (2011) Correlation of anti-signal recognition particle autoantibody levels with creatine kinase activity in patients with necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum* 63:1961–1971
25. Targoff IN, Johnson AE, Miller FW (1990) Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 33:1361–1370
26. Claeys KG et al (2013) Diagnostic challenge and therapeutic dilemma in necrotizing myopathy. *Neurology* 81:932–935
27. Aouizerate J et al (2014) Myofiber HLA-DR expression is a distinctive biomarker for antisynthetase-associated myopathy. *Acta Neuropathol Commun* 2:154
28. Mahler M, Miller FW, Fritzler MJ (2014) Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: a comprehensive review. *Autoimmun Rev* 13:367–371
29. Mescam-Mancini L et al (2015) Anti-Jo-1 antibody-positive patients show a characteristic necrotizing perifascicular myositis. *Brain J Neurol* 138:2485–2492
30. Stenzel W et al (2015) Nuclear actin aggregation is a hallmark of anti-synthetase syndrome-induced dysimmune myopathy. *Neurology* 84:1346–1354
31. Chatterjee S (2013) Antisynthetase syndrome: Not just an inflammatory myopathy. *Cleve Clin J Med* 80(10):655–666
32. Smith B (1969) Skeletal muscle necrosis associated with carcinoma. *J Pathol* 97:207–210
33. Wegener S, Bremer J, Komminoth P, Jung HH, Weller M (2010) Paraneoplastic Necrotizing Myopathy with a mild inflammatory component: a case report and review of the literature. *Case Rep Oncol* 3(1):88–92
34. Kassardjian CD, Lennon VA, Alfugham NB, Mahler M, Milone M (2015) Clinical features and treatment outcomes of Necrotizing Autoimmune Myopathy. *JAMA Neurol* 72(9):996–1003. doi:10.1001/jamaneurol.2015.1207
35. Dalakas MC (2010) Immunotherapy of myositis: Issues, concerns and future prospects. *Nat Rev Rheumatol* 6:129–137
36. Vallyil R, Casciola-Rosen L, Hong G, Mammen A, Christopher-Stine L (2010) Rituximab therapy for myopathy associated with anti-signal recognition particle antibodies: a case series. *Arthritis Care Res* 62:1328–1334
37. Curtin D et al (2014) Novel antibody associations in immune-mediated necrotizing myopathy without inflammation. *Ir J Med Sci*. doi:10.1007/s11845-014-1207-z
38. Grable-Espostol P et al (2010) Immune-mediated necrotizing myopathy associated with statins. *Muscle Nerve* 41:185–190

2.1. Le muscle au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes

2.1.1. Diagnostic clinique et examens complémentaires

Au cours des MNAI et de façon assez similaire aux autres MAI, la faiblesse musculaire est proximale et symétrique avec la présence d'une dysphagie et d'une dyspnée dans les cas avancés (Dalakas, 2015). La maladie est grave, d'installation aiguë ou subaiguë (quelques semaines à quelques mois) ou même chronique. En effet, une évolution lente a été mise en évidence chez des patients atteints de MNAI à aAc anti-SRP (Benveniste and Romero, 2011). Ce type de présentation pseudo-dystrophique peut égarer le diagnostic, ralentissant une prise en charge thérapeutique adaptée. Les patients atteints de MNAI ne présentent pas ou très peu d'atteinte extra-musculaire.

2.1.2. Electromyogramme et imagerie par résonnance magnétique

L'EMG est anormal et myogène comme dans tous les autres sous-types de MAI (Castro and Gourley, 2012; Hoogendijk et al., 2004).

L'IRM permet de déceler des différences entre les MAI (Tableau 9). Concernant les MNAI, il apparait que l'atteinte musculaire observée à l'IRM est plus grave chez les patients présentant des aAc anti-SRP que les patients présentant des aAc anti-HMGCR (Pinal-Fernandez et al., 2016).

	PM	DM	IBM	MNAI
Localisation principale de l'atteinte	Symétrique, proximale : ceinture scapulaire et pelvienne, muscles de la cuisse	Symétrique, proximale et distale : ceinture scapulaire et pelvienne, peau et muscles de la cuisse	Asymétrique (10-44% patients), distale (bras) et proximale (jambes)	Symétrique, proximale : rotateur de la hanche et fessiers
Œdème	Diffus Abducteurs, quadriceps	Sporadique et diffus dans le muscle (quadriceps) Tissus sous-cutané et fascia (reflète l'atteinte cutanée)	Diffus et rare comparé à PM/DM	Marqué dans le muscle vaste latéral (anti-SRP) Plus abondant (cuisses) que dans PM/DM
Infiltration graisseuse	Modérée	Modérée	Caractéristique la plus marquante (prédominant dans les cuisses, FPD et gastrocnémien)	Grave (anti-SRP) Postérieur > antérieur Plus intense (cuisses) que PM/DM
Atrophie	Modérée	Modérée	Caractéristique la plus marquante mais peut être absente Asymétrie plus marquée que dans PM/DM	Atrophie et asymétrie plus marquée que dans PM/DM

Tableau 9 : Caractéristiques musculaires observées à l'IRM dans les myopathies auto-immunes

FPD : fléchisseurs profonds des doigts (Pinal-Fernandez et al. 2016; Zheng et al. 2015; Cantwell et al. 2005; Curiel, Jones, et Brindle 2009; Dion et al. 2002; Badrising et al. 2005; Cox et al. 2011; Day, Patel, et Limaye 2016)

2.1.3. Analyses biochimiques : enzymes musculaires

Parmi les MAI, c'est chez les patients atteints de MNAI que l'on retrouve les taux les plus élevés (50 fois la normale) de CK sérique (Mammen et al., 2011; Miller et al., 2002; Stenzel et al., 2015). Les aminotransférases, la lactate déshydrogénase ou l'aldolase peuvent également être augmentées mais, comme indiqué précédemment, ne sont pas spécifiques du muscle (Hochberg et al., 1986).

2.1.4. Caractéristiques histologiques

En 2004, au cours du 119^{ème} séminaire international de l'ENMC, l'histologie des MNAI a été définie par la présence de nombreuses fibres musculaires nécrotiques, des cellules inflammatoires clairsemées, et des dépôts de complément. Un infiltrat inflammatoire, une atrophie périfasciculaire, les caractéristiques propres à l'IBM ainsi que des dépôts de complément à la surface de fibres non-nécrotiques constituaient les critères d'exclusion (Hoogendijk et al., 2004). Cependant, ce dernier critère est démenti par de nombreuses études ayant observé un dépôt de C5b-9 à la surface de myofibres normales (Allenbach et al., 2014; Benveniste et al., 2016; Christopher-Stine et al., 2010; Chung et al., 2015; Dimitri et al., 2007; Preuße et al., 2012; Troyanov et al., 2017; Watanabe et al., 2016). Une étude comparant

les MNAI aux myopathies nécrosantes non-immunes qualifie d'ailleurs ce critère de discriminant pour les MNAI graves (Preuße et al., 2012). Des dépôts de C5b-9 au niveau des capillaires peuvent être observés mais rarement chez tous les patients (Allenbach et al., 2014; Christopher-Stine et al., 2010; Chung et al., 2015; Dimitri et al., 2007; Kao et al., 2004; Troyanov et al., 2017; Wang et al., 2014; Watanabe et al., 2016), et sont parfois absents (Bronner et al., 2003; Hengstman et al., 2006). L'atteinte globale des capillaires (élargissement, déplétion focale, dépôts de complément) peut être présente dans la MNAI, mais de façon moindre que pour la DM et reste une particularité propre à cette dernière (Christopher-Stine et al., 2010; Chung et al., 2015; Dimitri et al., 2007; Miller et al., 2002; Watanabe et al., 2016).

Une surexpression du CMH-I peut également être observée, mais de façon moins constante et moins forte que dans les autres MAI (Alshehri et al., 2015; Bronner et al., 2003; Christopher-Stine et al., 2010; Chung et al., 2015; Kennedy et al., 2016; Needham et al., 2007; Preuße et al., 2012; Wang et al., 2014; Watanabe et al., 2015, 2016). Lorsqu'il est présent, le CMH-I peut être diffus ou (multi-)focal, sur toutes les fibres, ou cantonné aux fibres nécrotiques et en régénération.

Bien que considéré classiquement, l'absence totale d'infiltrat inflammatoire est en fait rapportée par peu d'études (Bronner et al., 2003; Hengstman et al., 2006; Watanabe et al., 2015) et il est habituellement présent chez environ 20% des patients (5-40%, Tableau 10) et souvent de façon légère ou minime sans accumulation focale. Certaines études le situent préférentiellement avec une localisation périvasculaire (Allenbach et al., 2014; Alshehri et al., 2015; Dimitri et al., 2007), d'autres plutôt en zone endo- et/ou périmysiale (Preuße et al., 2012; Suzuki et al., 2015; Wang et al., 2014). L'infiltrat est majoritairement composé de macrophages, entourant/envahissant les fibres nécrotiques mais également localisés de façon clairsemée (Basnayake et al., 2015; Chung et al., 2015; Wang et al., 2014). Des LT CD8⁺ et/ou CD4⁺ peuvent être présents *a contrario* des LB rarement présents (Benveniste et al., 2016; Chung et al., 2015; Klein et al., 2015; Preuße et al., 2012; Wang et al., 2014). Deux équipes ont étudié en détail l'infiltrat inflammatoire ainsi que sa polarisation. L'étude de Preuße et al. révèle une forte réponse Th1 activée par des macrophages de type M1, avec des niveaux d'interféron gamma (IFN γ), TNF α et STAT1 élevés. Cependant, celle-ci inclut dans les MNAI les myosites à anti-Jo1 (Preuße et al., 2012). L'étude de Chung et al. montre la présence de

macrophages M2 dans toutes les biopsies et M1 dans seulement 18,8%, mais aussi de cellules dendritiques plasmacytoïdes, productrices d'IFN-I. Une limitation concernant l'utilisation de marqueurs de surface pour l'identification du type de macrophage est soulignée par les auteurs (Chung et al., 2015). Une connaissance approfondie de la polarisation de l'infiltrat demande donc de plus amples investigations.

Il est parfois noté une prolifération du tissu conjonctif (fibrose) endomysial ou perimysial accompagnée de macrophages et cellules dendritiques (Alshehri et al., 2015; Dimitri et al., 2007; Miller et al., 2002; Wang et al., 2014). Les myofibres sont de taille variable et peuvent être atrophiques (Allenbach et al., 2014; Dimitri et al., 2007; Suzuki et al., 2014; Wang et al., 2014; Watanabe et al., 2015) mais sans localisation périfasciculaire.

Enfin, la caractéristique histologique la plus représentative de la MNAI est évidemment la présence de fibres en nécrose et en régénération, observée dans toutes les études citées précédemment, et ayant donné son nom à cette entité. Il est cependant à noter que les études recrutant les patients sur une base sérologique plutôt qu'histologique n'obtiennent pas 100% de biopsies nécrotiques, ce qui pourrait être expliqué par une biopsie au niveau d'un site non atteint (Tableau 10) (Alshehri et al., 2015; Ge et al., 2015; Pinal-Fernandez et al., 2017; Suzuki et al., 2015; Werner et al., 2012). Les fibres atteintes sont à des stades variés de dégénérescence/régénération et sont disséminées au sein des fascicules (Alshehri et al., 2015; Basnayake et al., 2015; Benveniste et al., 2016; Dimitri et al., 2007).

Ref	# patients	Caractéristiques histologiques (%)					
		Myofibres CMH-I ⁺	Myofibres C5b-9 ⁺	Capillaires C5b-9 ⁺	Nécrose	Régénération	Infiltrat
Watanabe 2016	68	51	22	26	oui + Mφ	100	0
Wang 2014	16	69	56 (sur N)	12,5	oui	100	éparse
Suzuki 2014	41	21			90	90	17
Pinal-Fernandez 2017	37				78		14
Hengstman 2006	15	0	4/6 (sur N)	0	73 + Mφ 50		0
Kao 2004	10			67	70	90	25
Zheng 2014*	12				100	100	8,3
Suzuki 2015	100				84	84	16
Takada 2009	11				82	100	5
Watanabe 2016	45	49	65	21	100	100	0
Ashton 2016	19	73	9			91	36 léger
Allenbach 2014	20	40	65	25	100	100	40 léger
Alsheri 2015	44	30	53		52	66	27
Ge 2015	12	33			67		17
Mammen 2011	40				100	100	20
Werner 2012	53				90,6		23
Christ.-Stine 2010	16	50	50 (sur NN)	75	100		31 léger
Tiniakou 2016	104				77		minimal

Tableau 10 : Caractéristiques histologiques des biopsies musculaires de patients atteints de MNAI

Les études citées reposent sur des cohortes de plus de 10 patients, études SRP (vert) et HMGCR (orange). *utilisation de 6 patients de Wang et al. 2004. Sur N/NN : retrouvé sur fibres nécrotiques/non-nécrotiques. Mφ : macrophages

De la même façon que pour les autres MAI, les caractéristiques histologiques, sérologiques et observées à l'IRM des MNAI la distinguent des autres sous-types. Il ressort de ces données que l'infiltrat inflammatoire n'est pas absent, bien que léger, et que les dépôts de C5b9 sont bien présents, appelant à une évolution des critères de classification selon Hoogendijk et al.

2.2. Les auto-anticorps spécifiques des myopathies nécrosantes auto-immunes

Les MNAI représentent une entité cohérente en termes de signes cliniques et histologiques. Elles sont associées à la présence de deux aAc très spécifiques, dirigés contre la particule de reconnaissance du signal (SRP, *Signal Recognition Particle*) et la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMGCR).

2.2.1. Auto-anticorps anti-SRP

SRP est une ribonucléoprotéine cytoplasmique. Elle est constituée de 6 chaînes polypeptidiques de poids moléculaires différents (72, 68, 54, 19, 14 et 9 kDa) ainsi que d'une molécule d'ARN de 300 nucléotides, 7SL (Figure 12).

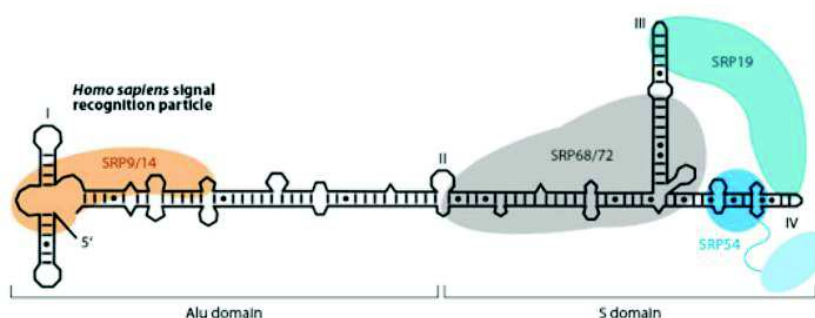


Figure 12 : Structure du complexe SRP

Le complexe SRP est composé de l'ARN 7SL et des 6 polypeptides, dont SRP54 (Akopian, 2013)

SRP et son récepteur assurent le transport des protéines néosynthétisées, lors de leur traduction, à la machinerie de translocation vers le réticulum endoplasmique. D'abord, SRP se lie avec une grande affinité au peptide signal de la chaîne polypeptidique en cours d'élongation sur le ribosome. Il arrête ensuite la synthèse à un point spécifique de la chaîne peptidique. Puis SRP interagit avec son récepteur ancré au réticulum endoplasmique, résultant en la reprise de la synthèse peptidique par le ribosome. La nouvelle protéine traverse alors la membrane pendant la fin de sa synthèse (Figure 13) (Walter et al., 1984). Là encore, il est frappant de constater que la réponse auto-immune cible un processus de la synthèse protéique.

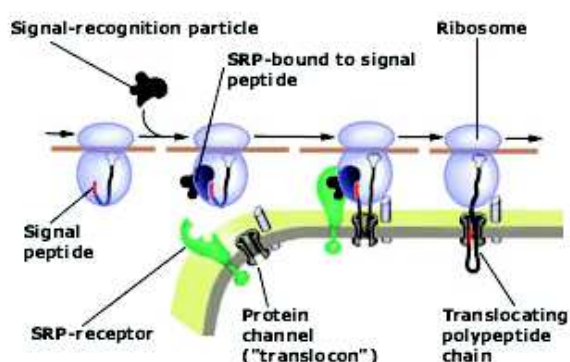


Figure 13 : Rôle du complexe SRP

Le complexe SRP est responsable du bon acheminement des protéines membranaires et sécrétoires

La sous-unité SRP54 est conservée au sein des espèces et possède deux domaines distincts : le domaine M riche en méthionine qui reconnaît la séquence signal et se lie à l'ARN SRP, et le domaine NG qui interagit avec un domaine NG homologue sur le récepteur et dont

l'activité GTPase régule le transport de son cargo (Akopian et al., 2013). Cette molécule assure à la fois la fixation à la chaîne polypeptidique en cours d'élongation et la fixation au récepteur sur la membrane du RE.

Les aAc anti-SRP ont été mis en évidence pour la première fois en 1982 chez un patient atteint de PM dont le sérum immunoprécipitait un ARN 7SL (Nakao et al., 1982). Par la suite, la cible de ces aAc ainsi que ceux d'autres patients a été décrite par (Okada et al., 1987): l'ARN 7SL précipité fait partie du complexe SRP. En 1986, les anti-SRP sont également détectés dans le sérum d'un patient atteint de PM (Reeves et al., 1986). Ces aAc sont plus particulièrement dirigés contre le polypeptide de 54 kDa appartenant au complexe SRP mais des anti-SRP19 et -SRP72 ont également été mis en évidence (Kao et al., 2004; Valiyil et al., 2010; Wang et al., 2016). Des Ac anti-ARN 7SL ne réagissant avec aucune des sous-unités de SRP ont aussi été identifiés respectivement dans 5% et 22 à 50% des populations nord-américaine et japonaise (Sato et al., 2005; Suzuki et al., 2015). Ces résultats suggèrent la présence de faux-négatifs (Aggarwal et al., 2015) dans les études n'utilisant pas l'immunoprécipitation (ELISA, Immunodot, ALBIA) et requièrent des recherches plus approfondies.

La confusion avec les PM pures selon les critères de Bohan et Peter sera confirmée dans deux cohortes de patients (Miller et al., 2002; Targoff et al., 1990). Ces patients présentaient une faiblesse musculaire grave, rapide et progressive, avec des CK très élevés et peu ou pas d'atteintes extra-musculaires. Ces caractéristiques seront retrouvées dans de multiples études, mais associées à une myopathie nécrosante auto-immune et non plus à une PM à partir de 2004 lorsque la nouvelle classification de Hoogendijk et al. est utilisée (Basnayake et al., 2015; Hengstman et al., 2006; Kao et al., 2004; Pinal-Fernandez et al., 2017; Suzuki et al., 2014, 2015; Wang et al., 2014; Watanabe et al., 2016).

La faiblesse musculaire est quasi-systématiquement proximale et symétrique. Lorsqu'elle est présente, la latéralité ne dépasse pas les 16% (Suzuki et al., 2012, 2015). Les jambes sont plus souvent touchées que les bras (60-73%) (Suzuki et al., 2012, 2015; Watanabe et al., 2016). D'autres atteintes musculaires sont fréquemment observées comme la faiblesse des muscles du cou (40-80%) et la dysphagie (19-69%). Une atrophie (36-100%) et des myalgies (17-66%) sont présentes. L'insuffisance respiratoire est peu fréquente, autour de 12%, et l'insuffisance cardiaque quasi absente (0-5%, Basnayake et al., 2015) à l'exception d'une étude de 2004 où elle atteignait 13% (Kao et al., 2004). Cette étude, ainsi que celle de

Hengstman et al., sont les seules à rapporter des manifestations extra-musculaires (rash, arthrite et phénomène de Raynaud) supérieures à 10% sur une large cohorte. La pneumopathie interstitielle se manifeste chez 13 à 23% des patients, pourcentage très inférieur à ce qui peut être observé chez les patients souffrant de SAS (Tableau 11) (Hengstman et al., 2006; Kao et al., 2004; Pinal-Fernandez et al., 2017; Suzuki et al., 2014, 2015).

L'atteinte musculaire en général est plus grave chez les patients anti-SRP⁺ que chez les patients anti-HMGCR⁺, ou les patients atteints d'autres sous-type de myosites, et les manifestations extra-musculaires moins fréquentes (Kao et al., 2004; Pinal-Fernandez et al., 2016, 2017; Watanabe et al., 2016). Pour preuve, le caractère grave de l'atteinte musculaire est très rarement mentionné dans les MNAI anti-HMGCR⁺ (Tableau 11, Tableau 12).

Plusieurs études plaident en faveur de la pathogénicité des aAc anti-SRP. Deux études longitudinales portant chacune sur 8 patients recevant un (nouveau) traitement ont analysé les taux sériques d'aAc anti-SRP, de CK et la force musculaire. Dans les deux études, les taux de CK et/ou la force musculaire, reflets de l'activité de la maladie, sont fortement corrélés aux taux d'aAc anti-SRP (Aggarwal et al., 2015; Benveniste et al., 2011). De plus, l'efficacité des traitements ciblant les lymphocytes B (rituximab) ou les Ac présents dans le sang (plasmaphérèse, immunoglobulines intraveineuses : IVIg) est un argument en faveur de cette hypothèse (Benveniste et al., 2011; Kawabata et al., 2012; Suzuki et al., 2012; Valiyil et al., 2010; Watanabe et al., 2016). *In vitro*, il a été démontré que les aAc anti-SRP inhibent l'activité du complexe SRP, ce qui pourrait participer à l'effet pathogène de ces aAc (Römissh et al., 2006). Toujours *in vitro*, une étude à laquelle le laboratoire a collaboré a démontré un effet délétère des aAc anti-SRP et anti-HMGCR sur des myotubes (atrophie) et myoblastes (diminution de la différenciation en myotubes) (Arouche-Delaperche et al., 2017). Un autre groupe note un effet faible de sérum anti-SRP⁺ sur des cultures de myoblastes, amplifié par l'ajout de complément (Rojana-udomsart et al., 2013).

Dans les MNAI à aAc anti-SRP, la vitesse de progression de la maladie est très variable. Elle peut être chronique (supérieure à 6 ou 12 mois selon les études : Watanabe et al. 2016; L. Wang et al. 2014; Suzuki et al. 2014; Suzuki et al. 2015), ou subaiguë (inférieure à 6 mois : Hengstman et al. 2006; Suzuki et al. 2014; Suzuki et al. 2012). Une étude suggère d'ailleurs un intérêt à subdiviser les patients selon leur progression. En effet, les patients atteints d'une

forme chronique sont plus jeunes (15,4 vs 52,4 ans), ne présentent aucune manifestation extra-musculaire mais sont beaucoup plus sujets aux séquelles neurologiques que les patients atteints de la forme subaiguë. De façon intéressante, aucune différence en termes de niveaux de CK n'a été mise en évidence entre ces deux groupes (Suzuki et al., 2012). Ces résultats sont peut-être reliés à ceux de Pinal-Fernandez et al. qui montrent que plus les patients sont jeunes, plus la faiblesse musculaire est grave à tout moment de la maladie. De graves séquelles neurologiques ont également été retrouvées chez 8 patients pédiatriques dans l'étude de Suzuki et al.

Les cas pédiatriques de myopathie à aAc anti-SRP représentent moins de 2% des MAI juvéniles (Rider et al., 2013; Shah et al., 2013) et sont caractérisés par une atteinte musculaire proximale et atrophique, et plus fréquemment que chez les adultes par un début de la maladie très grave, une atteinte cardiaque (50%), une perte de poids, des hospitalisations fréquentes et une utilisation du fauteuil roulant (Kawabata et al., 2012; Rider et al., 2013; Rouster-Stevens and Pachman, 2008; Shah et al., 2013; Suzuki et al., 2011). Les jeunes filles ainsi que la population noire (jusqu'à 83%) sont les plus touchées (Rider et al., 2013; Rouster-Stevens and Pachman, 2008; Shah et al., 2013). Les taux de CK sont généralement bien plus élevés que chez les adultes (>20 000 UI/L) (Kawabata et al., 2012; Rider et al., 2013; Rouster-Stevens and Pachman, 2008) mais peuvent également être à un niveau comparable (environ 6000 UI/L) (Almeida et al., 2016; Suzuki et al., 2008, 2011). Comme chez les adultes, la myopathie peut parfois être accompagnée de signes cutanés (Almeida et al., 2016; Rider et al., 2013).

L'association des anti-SRP avec le cancer est rare (Hengstman et al., 2006; Suzuki et al., 2015) voire absente (Kao et al., 2004; Zheng et al., 2015). Observation confirmée par l'étude d'Allenbach et al. qui montre une absence de sur-risque entre la présence d'aAc anti-SRP et celle d'un cancer, contrairement aux autres MNAI (aAc anti-HMGCR et séronégatives). De plus, une autre étude de grande envergure (177 patients japonais atteints de MNAI) n'a pas mis à jour de différence dans la fréquence de cancer parmi les MNAI (Tableau 11) (Watanabe et al., 2016), ce qui pourrait être expliqué par un facteur génétique.

Une étude a suggéré l'association des anti-SRP avec un début de la maladie à l'automne (Leff et al., 1991) mais l'hypothèse se verra réfutée par des études ultérieures (Sarkar et al., 2005; Suzuki et al., 2012; Wang et al., 2014).

Les aAc anti-SRP sont retrouvés dans 3,3 à 6% (cohortes européennes et américaines : Hengstman et al., 2006; Kao et al., 2004; Pinal-Fernandez et al., 2016) et 13 à 20% (cohortes asiatiques : Watanabe et al. 2016; Wang et al. 2014; Suzuki et al. 2014) des patients atteints de MAI, suggérant la possibilité d'une influence géographique ou génétique. Leur pourcentage parmi les MNAI varie de 22 à 39% (Tableau 11) (Pinal-Fernandez et al., 2016; Wang et al., 2014; Watanabe et al., 2016).

	# patients		Patients anti-SRP ⁺		Caractéristiques						Atteinte musculaire %								Atteinte EM %				
Ref	MAI	MNAI	Prévalence %MAI	Prévalence %MNAI	%Ethnie	Sexe (%femmes)	Age moyen	Taux CK moyen	%Expo statines	% Cancer	Membres	Grave membres	Cou	Dysphagie	Insuf. Resp.	Atrophie	Myalgies	Cardiaque	Fièvre	Rash	Arthrite	Raynaud	PI
1	387	177	18	39	As	59	55,2	6589	4		63	63	71	68	12	68	27	Infréq	Fréq. Faible				
2	123	44	13	36	As	75	46,6	3759			88			19	12,5		37,5		0				
3	207	64	20		As	66	51	6989			68	68	73	39	5	71	44	0	5 à 7				
4					56C, 42N	78	38,4	3370	5					38					1,3				
5	417	23	5,5		C	72	47,7	6872	4	8,7	95	95		69		70	66	0	13 13 26 21				
6	263	16	6		75C, 25N	50	50,8			0	50	50				67	60	13	13 19 23				
7	666	101	3,3	22	59C, 36N	86	38,4																
8		100			As	61	51,3	6161	5	5	100	63	70	41	12	66	34	2	8 6 4 7 13				
9*		12			As		38,5	5200	0	0	100			25			17						
10		22	Subaigue		As	55	52,4	6101		9	100	50	41		14	36		5	18 9 5 5 18				
		5	Chronique		As	60	15,4	4190		0	100	100	80		20	100	20	0	0 0 0				
11		21			As	71	51,6	5016		9,5				14					14 17 4 22				

Tableau 11 : Caractéristiques cliniques, musculaires et extra-musculaires des patients atteints de MNAI à auto-anticorps anti-SRP

Les études citées présentent des cohortes de plus de 10 patients. # : nombre, PI : pneumopathie interstitielle, EM : extra-musculaire, As : asiatiques, C : caucasiens, N : noirs. * utilisation de 6 patients de la Ref 2. En gras, nombre de patients SRP⁺. 1-Watanabe 2016 ; 2-Wang 2014 ; 3-Suzuki 2014 ; 4-Pinal-Fernandez 2017 ; 5-Hengstman 2006 ; 6-Kao 2004 ; 7-Pinal-Fernandez 2016 ; 8-Suzuki 2015 ; 9-Zheng 2015 ; 10-Suzuki 2012 ; 11-Takada 2009

	# patients		Patients anti-HMGCR ⁺		Caractéristiques						Atteinte musculaire %								Atteinte EM %				
Ref	MAI	MNAI	Prévalence %MAI	Prévalence %MNAI	%Ethnie	Sexe (%femmes)	Age moyen	Taux CK moyen	%Expo statines	% Cancer	Membres	Grave membres	Cou	Dysphagie	Insuf. Resp.	Atrophie	Myalgies	Cardiaque	Fièvre	Rash	Arthrite	Raynaud	PI
1	387	177	12	26	As	69	56,4	6436	18		24	24	44	44	0	44	10	Infréq	low freq				
7	666	101	7,5	50	78C, 14N	64	53,3																
12		206*		22	C	73	48,9	6941	44	11	97,7	75,5		26,7		22,2	53,3	2,2			11	11	2,2
13		49			76C, 22N	67	50	4232	38	10	84			35			78			25			20
14	405	22	5,4		As	73	41,1	2538	15	5	75			37,5			70				25		15
15	750	45	6		73C, 20N	58	52	9718	66,7		95,6												
16	1006	17	5,5		71C, 24N	65	53,6	10104	72,7		94,5												
17		32		50	56 C	63	54	10333	63	12,5	100			63		67	75			44	50	13	0
18			5,5		72C, 19N	59	55	2812		6	96			27						5			4
19						66	56	9551	89	11	100												
20	233	27	6,9	41		64	67,4	7265	100	0							36		0				
21		20		67	C	70	65	7189	86	0	100		25	36			30						

Tableau 12 : Caractéristiques cliniques, musculaires et extra-musculaires des patients atteints de MNAI à auto-anticorps anti-HMGCR

Les études citées présentent des cohortes de plus de 10 patients. # : nombre, PI : pneumopathie interstitielle, EM : extra-musculaire, As : asiatiques, C : caucasiens, N : noirs. * suspicion de MNAI. En gras, nombre de patients anti-HMGCR⁺. 1-Watanabe 2016 ; 7-Pinal-Fernandez 2016 ; 12-Allenbach 2014 ; 13-Alsheri 2015 ; 14-Ge 2015 ; 15-Mammen 2011 ; 16-Werner 2012 ; 17-Christopher-Stine 2010 ; 18-Tiniakou 2016 ; 19-Chung 2015 ; 20-Klein 2015 ; 21-Ashton 2016

2.2.2. Auto-anticorps anti-HMGCR

Les aAc anti-HMGCR (3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase) ont été mis en évidence pour la première fois chez 16 patients atteints de MNAI dont le sérum immuno-précipitait deux protéines de 100 et 200 kDa (Christopher-Stine et al., 2010). La forte proportion de patients exposés aux statines dans cette étude, ainsi que deux autres études décrivant 33 patients ayant développé une MNAI associée à la prise de statine (Grable-Esposito et al., 2010; Needham et al., 2007) ont suggéré à l'équipe de Mammen une piste dans l'identification de la cible de ce nouvel aAc. En se basant sur le travail de Morikawa et al. qui a étudié les gènes surexprimés par le muscle squelettique en présence de statine, ils identifient alors l'aAg comme étant HMGCR (Mammen et al., 2011). Il s'agit donc d'un résultat remarquable en auto-immunité puisqu'il révèle que la cible du médicament et des aAc sont en fait la même protéine : HMGCR.

Son poids moléculaire est de 97 kDa et HMGCR est capable de dimérisation. Ceci explique ainsi la bande de 200 kDa observée dans l'article de Christopher-Stine et al. L'HMGCR est une protéine localisée dans la membrane du réticulum endoplasmique et dont le domaine catalytique pointe vers le cytosol (Figure 14). Cette enzyme catalyse une étape clé limitante dans la biosynthèse du cholestérol : la transformation de l'HMG-CoA en mévalonate (Jo and DeBose-Boyd, 2010). Elle est la cible des traitements hypo-cholestérolémiant à base de statines (Friesen and Rodwell, 2004). Les aAc sont dirigés contre la partie C-terminale de la protéine qui constitue son site catalytique (Mammen et al., 2011).

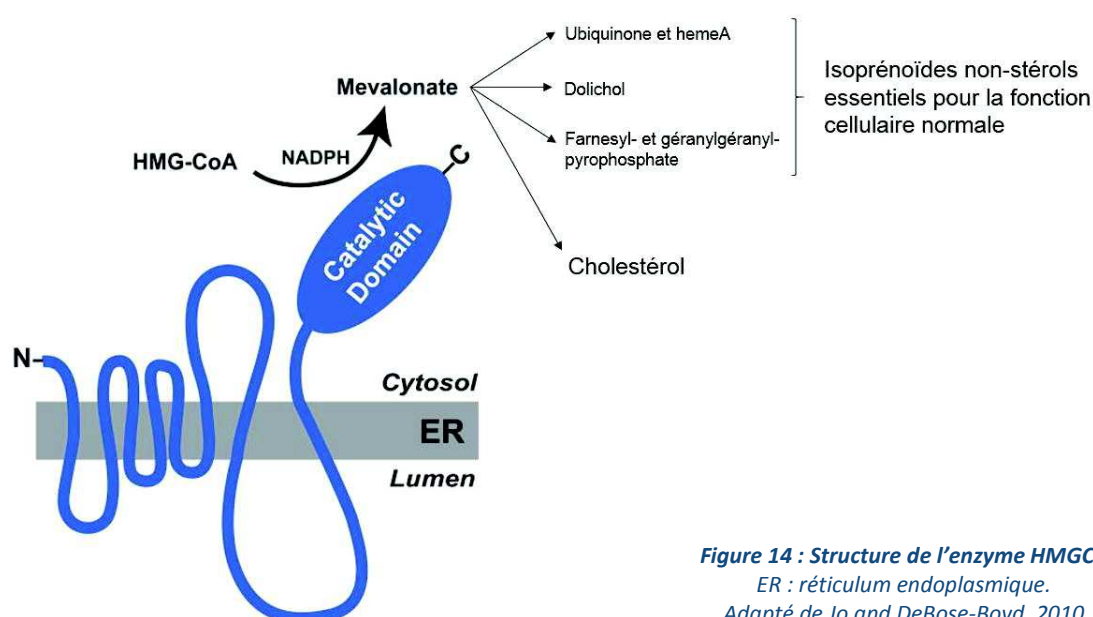


Figure 14 : Structure de l'enzyme HMGCR
ER : réticulum endoplasmique.
Adapté de Jo and DeBose-Boyd, 2010

D'un point de vue clinique (Tableau 12), les patients atteints de MNAI à aAc anti-HMGCR (anti-HMGCR⁺) sont semblables aux patients anti-SRP⁺. En effet, les patients présentent une faiblesse musculaire symétrique et proximale dans plus de 90% des cas, mais moins souvent grave que pour les patients anti-SRP⁺, de progression aiguë à chronique, des myalgies fréquentes (36-78%), de dysphagie (30-40%) et un sex-ratio en faveur des femmes (Allenbach et al., 2014; Ashton et al., 2016; Christopher-Stine et al., 2010; Mammen et al., 2011; Werner et al., 2012)(Yves Allenbach et al. 2014; Werner et al. 2012; Christopher-Stine et al. 2010; Mammen et al. 2011; Ashton et al. 2016). Parmi les différentes études, les taux moyens de CK sont plus hétérogènes pour les patients anti-HMGCR⁺ qu'anti-SRP⁺ (2500-10300 UI/L vs 3300-7000 UI/L). Les atteintes extra-musculaires sont aussi rares et la présence d'une pneumopathie interstitielle encore plus faible que chez les patients anti-SRP⁺ (Allenbach et al., 2014; Alshehri et al., 2015; Ashton et al., 2016; Christopher-Stine et al., 2010; Ge et al., 2015; Mammen et al., 2011; Watanabe et al., 2016; Werner et al., 2012).

L'analyse d'une cohorte conséquente de patients anti-HMGCR⁺ a mis au jour une corrélation entre l'âge et la gravité de la maladie (Tiniakou et al., 2017). En effet, au début de la maladie, les patients plus jeunes sont atteints de façon plus grave avec des CK plus élevés, et les plus âgés ont une meilleure force musculaire tout au long de la maladie avec une amélioration plus rapide. Les patients réfractaires au traitement étaient également statistiquement plus jeunes. Une étude chinoise avait déjà observé que les patients plus jeunes ont une évolution moins favorable (Ge et al., 2015).

Les aAc anti-HMGCR sont retrouvés dans 5,4 à 12% des MAI (Ge et al., 2015; Klein et al., 2015; Mammen et al., 2011; Pinal-Fernandez et al., 2016; Watanabe et al., 2016; Werner et al., 2012). La différence de prévalence observée pour les anti-SRP chez les Asiatiques n'est pas évidente ici puisque les anti-HMGCR sont retrouvés dans 12% d'une cohorte MAI japonaise mais 5,4% d'une cohorte chinoise (Ge et al., 2015; Watanabe et al., 2016). Les anti-HMGCR représentent 22 à 67% des patients atteints de MNAI (Tableau 12).

Plusieurs études rapportent une corrélation entre les taux d'aAc anti-HMGCR et les taux de CK ou la force musculaire (Allenbach et al., 2014; Alshehri et al., 2015; Ge et al., 2015; Werner et al., 2012). Cette corrélation est significative à la première visite, mais ne se poursuit pas dans le temps contrairement aux anti-SRP (Ge et al., 2015). Une étude rapporte une baisse significative des taux d'aAc anti-HMGCR, de CK et une augmentation de la force sans préciser

si ils sont corrélés (Werner et al., 2012). Dans ces deux dernières études, les taux d'aAc anti-HMGCR ne se sont pas normalisés malgré l'amélioration voire la rémission des patients. Il est possible que la réponse humorale soit polyclonale et que seuls les aAc non-pathogènes soient conservés après rémission. En effet, l'efficacité de traitements tels que les IVIg, le rituximab ou la plasmaphérèse chez les patients réfractaires sont en faveur d'une pathogénicité des aAc anti-HMGCR (Ashton et al., 2016; Kassardjian et al., 2015; Nichols et al., 2015; Ramanathan et al., 2015; Troyanov et al., 2005; Watanabe et al., 2015; Young and Ghobrial, 2015).

Les cas pédiatriques représentent 4 à 18% des MNAI à aAc anti-HMGCR (Allenbach et al., 2014; Mammen et al., 2011) et 1% des MAI juvéniles (Kishi et al., 2017; Tansley et al., 2017) dans des cohortes principalement caucasiennes. Une étude asiatique évalue les MNAI à aAc anti-HMGCR juvéniles à 15% des MAI, différence qui pourrait être due à l'ethnie ou à un biais de recrutement (Liang et al., 2016). De façon semblable aux adultes, les cas pédiatriques présentent une faiblesse musculaire proximale et symétrique, des taux de CK élevés et des biopsies révélant des fibres en nécrose et en régénération et associés à un infiltrat inflammatoire minime (Kishi et al., 2017; Liang et al., 2016; Mohassel et al., 2017). Cependant, les cas de progression très lente mimant une dystrophie génétique semblent plus fréquents (50%) que chez les adultes et sont une source d'erreur diagnostique (Allenbach et al., 2014; Liang et al., 2016; Mohassel et al., 2017; Tansley et al., 2017; Tard et al., 2017).

La particularité la plus notable de la MNAI à aAc anti-HMGCR chez l'adulte est son association à la prise de statines. En effet, à l'exception des cohortes asiatiques, 38 à 100% des patients ont été exposés aux statines (Tableau 12). Cette proportion est significativement plus élevée que dans les DM et PM, et également les IBM si l'on prend en compte les patients de plus de 50 ans (Christopher-Stine et al., 2010; Mammen et al., 2011). Cette observation a également été faite sans limite d'âge en comparant les MNAI anti-HMGCR⁺ avec les MAI (Klein et al., 2015), avec les MNAI anti-HMGCR⁻ (Kassardjian et al., 2015) ou anti-SRP⁺ (Tiniakou et al., 2017). Une étude chinoise n'a pas révélé de différence statistique concernant l'exposition aux statines entre les patients anti-HMGCR⁺ et les anti-HMGCR⁻ (Ge et al., 2015).

Les statines, utilisées pour leur effet hypocholestérolémique, sont prescrites pour la prévention des maladies cardiovasculaires. Dans le monde, on compte 25 millions de personnes prenant des statines (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, 2001). Elles agissent par compétition avec l'HMGCoA (substrat de

l'HMGCR) grâce à une similarité structurale (Figure 15). La prise de statine est associée à un large spectre d'effets secondaires musculaires allant d'une élévation asymptomatique des CK jusqu'à la rhabdomyolyse (2,5%) en passant par les myalgies (78%) et une myopathie (19%) (Pedro-Botet et al., 2016; Sathasivam, 2012).

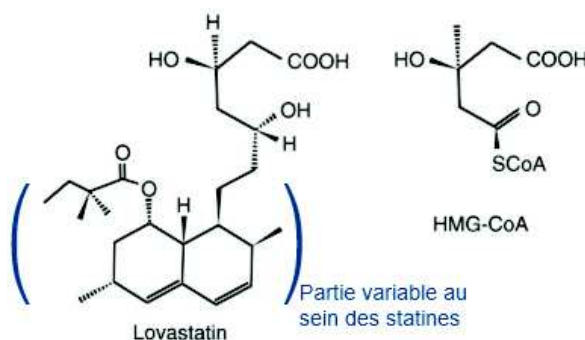


Figure 15 : Comparaison de la structure de la lovastatine et de l'HMG-CoA
(Friesen and Rodwell, 2009)

Cependant, dans deux études, dont une chez près de 2000 patients sous statine, avec certains patients à dose maximale, intolérants ou atteints de rhabdomyolyse, aucun ne présentait d'anti-HMGCR, suggérant un processus pathologique distinct (Floyd et al., 2016; Keating et al., 2017; Mammen et al., 2012b). Une statine particulière a été mise en cause : l'atorvastatine car elle est souvent majoritaire chez les patients exposés aux statines et présentant des anti-HMGCR, parfois même jusqu'à 90 à 100% (Allenbach et al., 2014; Klein et al., 2015; Ramanathan et al., 2015) à l'origine de l'appellation « atorNAM » (NAM : *necrotizing autoimmune myopathy*) (Trojanov et al., 2017). L'apparition d'une MNAI à anti-HMGCR a été rapportée chez une patiente dont le traitement initial par la simvastatine avait été remplacé par l'atorvastatine (Nichols et al., 2015). Cependant, l'atorvastatine est une des statines les plus prescrites, ce qui pourrait expliquer ces résultats (Klein et al., 2015; Trojanov et al., 2017).

Des statines peuvent être naturellement présentes dans certains aliments comme la levure rouge de riz, les pleurottes ou le thé fermenté (Gunde-Cimerman and Cimerman, 1995; Li et al., 2004; Zhao et al., 2013). Cependant, il semble peu probable que les doses de statine naturelle rencontrées par les patients non exposés aux statines médicamenteuses (Tableau 12) soient assez élevées ou assez régulières pour provoquer une MNAI, et suggère la nécessité d'un autre facteur déclenchant.

Il existe des différences entre les patients exposés aux statines et les non-exposés. La caractéristique prédominante au sein des études est le plus jeune âge des patients non-

exposés aux statines (Allenbach et al., 2014; Ashton et al., 2016; Mammen et al., 2011). Cette observation pourrait être expliquée par l'âge auquel sont prescrites les statines (CDC/NCHS, National Health and Nutrition Examination Survey) et nécessite une comparaison avec un groupe représentatif du même âge, ce qui n'est pas toujours le cas. L'atteinte musculaire semble plus grave chez les patients non-exposés aux statines (Ashton et al., 2016; Mammen et al., 2011), avec une force musculaire moindre indépendamment de l'âge (Tiniakou et al., 2017), et une myopathie plus réfractaire aux traitements (Ashton et al., 2016). L'étude de Mammen en 2011 a également souligné un pourcentage plus élevé de population noire dans les patients non-exposés aux statines.

Des études s'intéressant à une possible pathogénicité des aAc n'ont pas mis à jour de corrélation statistique entre les niveaux d'aAc et les taux de CK ou la force musculaire chez ces patients contrairement aux patients exposés aux statines (Werner et al., 2012). De plus lors du suivi, les taux d'aAc anti-HMGCR des patients non-exposés aux statines n'ont pas baissé (Ge et al., 2015; Werner et al., 2012). Une seule étude n'a pas identifié de différences à l'exception de l'âge entre ces patients (Alshehri et al., 2015).

L'association des MNAI anti-HMGCR⁺ avec le cancer n'est pas claire. L'étude d'Allenbach montre une augmentation de l'incidence de cancer en présence des aAc anti-HMGCR (Allenbach et al., 2016), une autre ne souligne qu'une tendance (Limaye et al., 2014) quand d'autres ne rapportent aucun cancer associé (Ashton et al., 2016; Kassardjian et al., 2015; Klein et al., 2015; Shovman et al., 2016). De plus, les études mentionnant des pourcentages relativement élevés (10-12,5%) sans comparaison à un groupe témoin, ne permettent pas de conclusion définitive (Tableau 12) (Allenbach et al., 2014; Alshehri et al., 2015; Christopher-Stine et al., 2010).

Les études effectuées sur les patients atteints de MNAI ont mis en évidence une entité à part entière. Les aAc anti-SRP ou anti-HMGCR délimitent des groupes de patients présentant des caractéristiques communes. La question de leur pathogénicité manque de preuves claires.

2.2.3. Associations avec d'autres auto-anticorps

Concernant les anti-SRP, 3 études rapportent leur association à des anti-Jo1 correspondant soit à un phénotype clinique corrélé aux deux aAc (pneumopathie interstitielle et atteinte musculaire grave) (Brouwer et al., 2001; Vincze et al., 2010), soit à un phénotype de type DM avec une atteinte musculaire grave et rapidement progressive, une pneumopathie interstitielle avec épanchement pleural suggérant que l'association des deux aAc pourrait être synergique et mener à des atteintes plus graves (Sugie et al., 2012). Une association anti-SRP et anti-PL12 a également révélé un phénotype combinant l'histologie de la MNAI et l'atteinte pulmonaire caractéristique du SAS, nécessitant un traitement très agressif (Malkan et al., 2015). Les anti-SRP peuvent également s'associer aux anti-Ro52 (Brouwer et al., 2001; Frank et al., 1999).

Les anti-HMGCR peuvent être associés à des anti-Jo1 ou des AAM (Alshehri et al., 2015; Ge et al., 2015; Klein et al., 2015; Mammen et al., 2011), mais de façon moins fréquente que dans les MAI anti-HMGCR⁺ (Limaye et al., 2014). Quelques cas de double positivité anti-HMGCR/anti-SRP ont été rapportés, sans plus de précisions sur leurs caractéristiques cliniques (Alshehri et al., 2015; Kassardjian et al., 2015). La présence concomitante d'anti-Mi2 et anti-HMGCR a été rapportée chez un patient australien sans phénotype relatif à une DM (Ramanathan et al., 2015).

2.3. Facteurs de risque associés

Chez l'adulte, la MNAI à aAc anti-HMGCR est associée à l'allèle HLA DRB1*11:01 dans les populations blanche et noire américaines ainsi que japonaise mais de façon moins forte pour cette dernière (Mammen et al., 2012a; Ohnuki et al., 2016). Dans la population américaine, aucune différence dans les caractéristiques cliniques entre les patients possédant ou non cet allèle n'a été démontrée (incluant les statines) (Mammen et al., 2012a). Dans la population japonaise en revanche, cet allèle est associé également aux MNAI avec cancer et aux maladies systémiques. Deux associations ont été identifiées dans la cohorte japonaise entre l'allèle DRB1*08:03 et (i) les MNAI associées aux statines, et (ii) les MNAI à aAc anti-SRP (Tableau 13) (Ohnuki et al., 2016). Ces HLA pourraient présenter des peptides provenant de HMGCR ou SRP fortement immunogéniques et être donc impliqués dans la physiopathologie des MNAI.

Auto-anticorps	Allèle
Anti-SRP	B*50 DQA1*0104 DRB1*08 :03 (japonais)
Anti-HMGCR	DRB1*11:01 DR11/DQA5/DQB7 (caucasiens) HLA DRB1*07:01 (enfants)

Tableau 13 : Gènes de susceptibilité associés aux auto-anticorps spécifiques des MNAI

Concernant les statines, l'étude SEARCH a identifié plusieurs facteurs de risques génétiques. Des SNP (*single-nucleotide polymorphism*) au sein du gène SLCO1B1 sont en effet fortement associés au développement d'une myopathie associée aux statines. Ce gène code pour un transporteur d'anions régulant l'absorption hépatique des statines (SEARCH Collaborative Group et al., 2008). Cependant la prévalence de ces SNP n'était pas augmentée chez les patients atteints de MNAI à anti-HMGCR dans une étude américaine (Mammen et al., 2011), suggérant d'autres susceptibilités génétiques ou environnementales. Il en va de même pour le HLA-DRB1* 04:06 identifié chez les patients japonais atteints de myopathie associée à la prise de statines, jamais mis en évidence dans les MNAI (Sai et al., 2016).

Chez l'enfant, tous les cas de MNAI à aAc anti-HMGCR testés étaient porteurs de l'allèle HLA-DRB1*07:01, différent du HLA prédominant chez l'adulte, suggérant un mécanisme ou une réactivité épitopique différente (Kishi et al., 2017; Mohassel et al., 2017).

3. Modèles animaux de myosite

Malgré des efforts constants depuis la découverte des myosites, les mécanismes physiopathologiques à l'origine des MAI restent obscurs. Par conséquent, les approches thérapeutiques reposent souvent sur l'utilisation d'immunosuppresseurs non-spécifiques, avec parfois peu d'efficacité. La mise au point de modèles animaux reproduisant ces pathologies est donc indispensable, tant pour la compréhension des mécanismes impliqués que pour l'amélioration des traitements. Il existe divers types de modèles de MAI : spontané, nutritionnel, infectieux, immunologique et transgénique. Chacun présentant ses avantages et ses inconvénients mais apportant toujours un indice supplémentaire à la compréhension de ces maladies complexes.

3.1. Modèles spontanés

Il existe deux types de modèles spontanés, identifiés chez le chien. Une forme locale, la myosite des muscles masticateurs du chien et une forme générale, la polymyosite canine (Hargis and Prieur, 1988; Hargis et al., 1985). Les caractéristiques observées sont proches de celles des MAI avec une atteinte musculaire symétrique, et plus particulièrement de la DM puisqu'associées à une atteinte cutanée pour la myosite des muscles masticateurs. En plus des caractéristiques phénotypiques, l'EMG et l'histologie des muscles sont proches des particularités humaines de la DM pour la myosite des muscles masticateurs et de la PM pour la polymyosite canine (Dalakas, 2004). Ces modèles ont l'avantage d'être naturels et donc de ne pas être biaisés par une induction forcée. Cependant, la recherche sur les chiens représente des limitations d'hébergement et d'éthique difficiles à dépasser.

3.2. Modèles induits par régime alimentaire particulier

L'hypothèse d'un aspect dégénératif dans le cadre de l'IBM, la rapprochant de la maladie d'Alzheimer, a poussé les recherches vers l'implication du cholestérol dans les mécanismes physiopathologiques. En effet, il existe un modèle de maladie d'Alzheimer chez le lapin reposant sur un régime alimentaire riche en cholestérol. L'aspect musculaire chez ce modèle a donc été évalué, mettant en lumière des caractéristiques histologiques ressemblant à celles de l'IBM mais avec une faible incidence (Chen et al., 2008). Il est à noter que l'atteinte simultanée du cerveau et du muscle n'est pas observée chez l'homme et indique que les résultats observés sont liés au modèle lui-même. Cependant, l'existence des aAc anti-HMGCR

dont la cible a un rôle clé dans la biosynthèse du cholestérol représente un argument en faveur de l'implication de cette voie métabolique dans la MNAI.

3.3. Modèles infectieux

L'effet délétère de certains agents infectieux sur le muscle a été largement observé et a donc été soupçonné d'être à l'origine des MAI. L'infection de certaines lignées de souris avec le virus coxsackie B1 conduit à une myosite dose-dépendante des membres inférieurs proximaux accompagnée de nécrose et d'inflammation à l'histologie, avec un fort taux de mortalité. La persistance de la myopathie après élimination du virus est en faveur de l'hypothèse d'un rôle déclenchant inducteur des virus (Strongwater et al., 1984). Deux autres virus sont capables d'induire une myosite, moins grave que le virus coxsackie : le virus de la rivière Ross et du chikungunya. La myosite induite est accompagnée d'arthrite et se développe expérimentalement chez les souris Rag1^{-/-}, démontrant une absence de rôle du système immunitaire adaptatif (Morrison et al., 2006, 2011).

Le parasite *Trypanosoma cruzi* induit une myosite légère chez la souris affectant les muscles squelettiques et le myocarde avec un rétablissement rapide. L'infiltrat inflammatoire est composé majoritairement de LT CD8⁺ (Andersson et al., 2003). L'exacerbation de la maladie chez les souris déficientes en facteur régulateur du complément Daf indique un rôle prépondérant du complément dans cette pathologie (Solana et al., 2012). Enfin, *Leishmania infantum*, lorsqu'il est injecté à des hamsters induit une atteinte musculaire avec infiltrats de LT CD8⁺ au sein de myofibres exprimant le CMH-I (Paciello et al., 2010).

De la même façon que chez l'homme, les virus HTLV-1 et VIH induisent chez le singe et le chat (virus de l'immunodéficience féline), entre autres, une myopathie dont les signes biologiques et histologiques s'apparentent à la polymyosite (Beilke et al., 1996; Podell et al., 1998).

L'utilisation d'agents infectieux s'avère plutôt efficace pour induire une atteinte musculaire de longue durée permettant l'étude de la réponse du muscle à une destruction chronique. Cependant, la mortalité accrue impliquée par ces procédures pose un problème éthique de souffrance animale. De plus, les mécanismes précis à l'origine de la pathologie induite n'ont pas été investigués (Afzali et al., 2017).

3.4. Modèles immunologiques

La découverte de nombreux aAc spécifiques des myosites et leur association à des phénotypes cliniques et histologiques très particuliers est un argument en faveur d'une physiopathologie médiée par l'aAg. Les modèles immunologiques reposant sur l'immunisation d'animaux semblent donc être les plus pertinents dans le cadre de cette hypothèse, mais nécessitent de très forts adjuvants (adjuvant complet de Freund : CFA, toxine pertussique) pour aboutir à une rupture de tolérance envers l'aAg. De plus, il est probable qu'ils induisent une inflammation non-spécifique liée au site d'injection et pouvant diffuser au muscle. Il existe trois modèles principaux : la myosite auto-immune expérimentale (MAE) induite par la fraction myosine B partiellement purifiée ou par la myosine purifiée, et la myosite induite par la protéine C.

En 1965, l'injection sous-cutanée et intramusculaire d'un homogénat musculaire à des cochons d'inde entraîne un infiltrat inflammatoire du muscle, de la nécrose et de la phagocytose à l'histologie, donnant naissance au terme MAE (Dawkins, 1965). En 1987, une équipe de Tokyo purifie un homogénat musculaire le réduisant à une fraction « MB » contenant diverses protéines dont la myosine, l'actine et la tropomyosine (Matsubara and Takamori, 1987a). La myosite induite par cette fraction MB est aiguë, avec un infiltrat inflammatoire constitué de lymphocytes, macrophages et la présence de dépôts d'IgG et de complément, l'expression aberrante de CMH-II à la surface des myofibres (Matsubara and Takamori, 1987b; Rosenberg and Kotzin, 1989). L'utilisation de fraction MB provenant d'une autre espèce, le nombre et la fréquence des injections ont permis d'améliorer ce modèle. Cependant, la MAE n'est inductible que chez la souche SJL/J (Rosenberg et al., 1987), et il a été démontré que cette souche développe une myopathie spontanée en vieillissant (Weller et al., 1997), dû à un défaut en dysferline (Kobayashi et al., 2012), induisant donc un biais dans ces modèles. En effet, le déficit en dysferline cause lui-même une myopathie (dystrophie des ceintures et myopathie de Miyoshi chez l'homme).

Faisant suite à ces modèles, une équipe obtient la myosine avec un degré de pureté supérieur à partir de la fraction MB. La MAE obtenue chez le rat est plus grave, présentant un infiltrat composé de LT CD8⁺ et macrophages, avec l'utilisation de myosine xénogénique et un schéma de 4 injections hebdomadaires (Kojima et al., 1997). Ce protocole a rendu possible l'induction de MAE chez la souris C57BL/6 (Scuderi et al., 2006). Le rôle des LT régulateurs a

été démontré dans ce modèle, en effet, les souris déficientes pour ces cellules développent une myosite plus grave qu'en présence de LT régulateurs. De plus, la myosite peut être transférée via l'injection de LT CD4⁺ provenant de souris MAE à des souris naïves (Allenbach et al., 2009). Cependant, ces modèles reproduisent peu les signes cliniques et la faiblesse musculaire observés chez l'homme.

La myosite induite par la protéine C (MIC) (purifiée à partir de la fraction MB) est plus reproductible et induit une maladie plus grave que la MAE, avec des infiltrats composés de macrophages, LT CD4⁺ et CD8⁺ plus proches de ceux de l'homme (Kohyama and Matsumoto, 1999). L'utilisation de fragments recombinants de la protéine C a permis l'amélioration de l'incidence du modèle mais pas celle de la gravité (Matsumoto et al., 2007) et sans chronicité de la pathologie.

Les modèles de MAE et de MIC ont été notamment utilisés pour tester l'efficacité des traitements prescrits chez l'homme.

De façon plus spécifique, un modèle basé sur l'immunisation de souris (BALB/c et C57BL/6) avec l'Histidyl-ARNt synthétase (HRS), cible des aAc anti-Jo1 au cours du SAS a été mis au point en 1997. Il consiste en l'injection intramusculaire d'ADN plasmidique codant pour l'HRS recombinante humaine. Contrairement à l'immunisation classique avec la protéine accompagnée d'un adjuvant, celle-ci induit peu d'Ac mais un infiltrat cellulaire dans le muscle injecté. Cependant, une absence de signes histologiques dans les autres muscles et dans les poumons n'en font pas un bon modèle du SAS (Blechynden et al., 1997). En 2007, le modèle est amélioré par immunisation sous-cutanée avec l'HRS murine qui induit une atteinte musculaire et pulmonaire mimant les atteintes humaines (Katsumata et al., 2007). Ce travail met en évidence une spécificité espèce-dépendante dans les épitopes ciblés par la réponse immune. Il a été montré la possibilité d'induire une inflammation plus importante strictement restreinte au muscle par immunisation intramusculaire sans adjuvant (Soejima et al., 2011). Des résultats similaires obtenus chez des souris Rag2^{-/-} et TLR4^{-/-} démontrent que cette inflammation est indépendante des LT et LB et ne requiert pas de signalisation via le TLR4. En 2015, une nouvelle approche est explorée avec l'utilisation de myoblastes dont l'irradiation courte induit une apoptose et l'expression extracellulaire de l'HRS à la surface des blebs apoptotiques. Ceux-ci sont injectés en intramusculaire en présence d'un adjuvant TLR7, le R848, chez des souris préalablement injectées avec de la cardiotoxine. Le but de la

cardiotoxine étant d'induire un contexte musculaire de régénération où les myofibres surexpriment l'Ag cible. Les souris développaient des Ac anti-HRS de façon persistante après un rappel, une régénération du muscle retardée comparée à l'injection de cardiotoxine seule, et la présence d'un infiltrat composée majoritairement de LT CD8⁺ (Sciorati et al., 2015). Par ailleurs, il a été démontré que l'aAg HRS peut être clivé par la granzyme B et possède des capacités chimiotactiques sur les lymphocytes T et les cellules dendritiques immatures, suggérant un rôle dans l'entretien de la réponse auto-immune (Howard et al., 2002).

3.5. Modèles transgéniques

Sur le même principe que les modèles nutritionnels et l'IBM, des modèles transgéniques ont été construits dans le but de surexprimer la protéine beta amyloïde dans le muscle. Les souris développent certaines caractéristiques cliniques et histopathologiques vues chez l'homme comme des noyaux centraux, de l'inflammation et un déficit moteur (Sugarman et al., 2002). Cependant, l'infiltrat inflammatoire est constitué principalement de polynucléaires neutrophiles, caractéristique non observée chez l'homme. Des altérations fonctionnelles et structurales des mitochondries sont observées dans les muscles de ce modèle, observées au cours d'autres maladies humaines (sclérose amyotrophique latérale) mais pas de l'IBM (Boncompagni et al., 2012).

L'observation de myofibres exprimant le CMH-I non-infiltrées, chez les patients atteints de myosite, suggère un mécanisme d'altération du muscle antérieur à l'inflammation, induit par un stress (Emslie-Smith et al., 1989). Le groupe de Nagaraju a créé un modèle de souris sur-exprimant de façon inductible le CMH-I dans le muscle squelettique (TRE-H2Kb). L'expression du CMH-I induit une faiblesse musculaire, une perte de poids, un taux de CK élevé, une atrophie musculaire, de la régénération et un infiltrat constitué de macrophages mais pas de LB ou LT. Comme chez l'homme, les voies de réponse au stress du réticulum endoplasmique, UPR (*Unfolded Protein Response*) et de surcharge du réticulum endoplasmique sont activées chez la souris (Nagaraju et al., 2005). Le développement au laboratoire d'une myopathie chez ces souris lorsqu'elles sont croisées aux souris Rag2^{-/-} est en faveur de l'implication de mécanismes non-immuns dans ce modèle (Fréret et al., 2013). Il est intéressant de noter que des anti-Jo1 ont été détectés dans le sérum de ces souris (Nagaraju

et al., 2000a), mais n'ont pas été retrouvés par notre équipe. De plus, ce modèle ne réplique pas de façon fidèle les infiltrats inflammatoires observés chez l'homme.

Plus récemment, un modèle de myopathie inflammatoire a été découvert de façon fortuite (Prevot et al., 2010). En effet, chez la souris NOD (*non-obese diabetic*), l'inactivation des gènes ICOS ou ICOSL (voie de co-stimulation des LT) entraîne une protection contre le diabète. Cependant, lorsque les souris vieillissent, elles développent une neuro-myopathie inflammatoire qu'il est possible de transférer à des souris NOD par transfert des LT CD4⁺. La myopathie est caractérisée par un déficit musculaire atteignant les pattes avant puis les pattes arrière, des myofibres en nécrose et régénération, un infiltrat inflammatoire composé de LT CD4⁺, CD8⁺ et de cellules myéloïdes (Briet et al., 2017).

Les modèles animaux sont indispensables pour l'étude et la compréhension des maladies rares. Concernant les MAI, peu de modèles spontanés existent, les modèles immunologiques sont complexes à mettre en place et les modèles transgéniques ne reproduisent pas un sous-type de MAI en particulier (Tableau 14). Il n'existe pas de modèle animal de MNAI.

Modèle	Espèce	Myosite	Méthode	Atteintes
Spontané	Chien	Myosite des muscles masticateurs (DM)		Atteinte musculaire symétrique et atteinte cutanée. Phénotype, EMG, histologie proche de la DM
		Polymyosite canine (PM)		Phénotype, EMG, histologie proche de la PM
Alimentaire	Lapin	- (IBM)	Alimentation riche en cholestérol	Histologie proche de l'IBM. Mais faible incidence et atteinte cérébrale
Infectieux	Souris	- (PM)	Infection par : Virus coxsackie B1	Atteinte des membres inférieurs proximaux, nécrose et inflammation à l'histologie, mortalité élevée, persistance après clairance du virus
	Souris (WT et Rag1 ^{-/-})		Virus de la rivière Ross et du chikungunya	Atteinte musculaire et arthrite
	Souris (WT et Daf ^{-/-})		<i>Trypanosoma cruzi</i>	Myosite légère des muscles squelettiques et du myocarde. Infiltrat LT CD8 ⁺ . Implication du complément
	Hamster		<i>Leishmania infantum</i>	Atteinte musculaire, infiltrats LT CD8 ⁺ au sein de myofibres CMH-I ⁺
	Singe		HTLV-1	Biologie et histologie proche de la PM
	Chat		VIF	Biologie et histologie proche de la PM
Immunologique	Cochon d'inde	MAE -	Immunsation avec : homogénat musculaire	Infiltrat du muscle, nécrose et phagocytose à l'histologie
	Souris SJL/J	MAE -	fraction myosine B, xénogénique	Myosite aiguë, infiltrat de lymphocytes, macrophages, dépôts d'IgG et complément, myofibres CMH-II ⁺
	Rat, souris C57BL/6	MAE -	myosine purifiée xénogénique	Myosite grave, infiltrat de LT CD8 ⁺ et macrophages. Aggravée en absence de LT régulateurs
		MIC -	protéine C	Plus grave que MAE. Infiltrat de macrophages, LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ plus proches de ceux de l'homme
	Souris	- (SAS)	ADN codant pour l'HRS (intra-musculaire)	Faible taux d'Ac, infiltrat dans le muscle injecté. Mais pas de signes histologiques ailleurs (autres muscles, poumons)
	Souris (WT, Rag2 ^{-/-} , TLR4 ^{-/-})	- (SAS)	HRS murine (sous-cutané)	Atteinte musculaire et pulmonaire mimant celles de l'homme
	Souris	- (SAS)	myoblastes irradiés (intra-musculaire + CTX)	Ac anti-HRS persistants, régénération du muscle retardée, infiltrat de LT CD8 ⁺
Transgénique	Souris	- (IBM)	Expression musculaire de : β-APP	Déficit moteur, noyaux centraux, inflammation (mais neutrophiles)
	Souris (modifiée et Rag2 ^{-/-})		CMH-I	Déficit et atrophie musculaire, perte de poids, CK élevé, régénération et infiltrat de macrophages
	Souris NOD	Neuro-myopathie	<i>knock out</i> général du gène ICOS ou ICOSL	Déficit musculaire, nécrose, régénération, infiltrat de LT CD4 ⁺ , CD8 ⁺ et cellules myéloïdes

Tableau 14 : Tableau récapitulatif des modèles animaux de myosite

WT : wild type, VIF : virus de l'immunodéficience féline, MAE : myosite auto-immune expérimentale, MIC : myosite induite par la protéine C, CTX : cardiotoxine, β-APP : protéine précurseur de l'amyloïde-β

C) Pathogénicité des auto-anticorps

1. Preuves de la pathogénicité des auto-anticorps

Les critères historiques permettant de définir qu'une maladie est auto-immune sont les critères de Witebsky (Witebsky et al., 1957). Ils requièrent (i) la présence d'un aAc ou d'une cellule T médiant la réponse auto-immune, (ii) l'identification de l'auto-antigène reconnu, (iii) et qu'une réponse auto-immune analogue déclenchée expérimentalement chez l'animal entraîne une maladie similaire à celle de l'homme. Depuis les années 50 de nombreux progrès ont fait évoluer cette classification. De nos jours, les maladies immunologiques vont de maladies monogéniques purement auto-immunes à des maladies monogéniques auto-inflammatoires en passant par des maladies polygéniques au croisement entre l'auto-immunité et l'auto-inflammation (McGonagle and McDermott, 2006).

Cependant, bien qu'historiques, ces critères sont toujours utiles pour déterminer qu'une cellule, ou qu'un anticorps dans notre cas, est à l'origine d'une maladie auto-immune. Ces critères se basent sur 3 preuves : la preuve directe, la preuve indirecte et la preuve circonstancielle (Rose and Bona, 1993).

La **preuve directe** consiste en la transmission de la maladie par transfert d'aAc. Elle peut être apportée de trois façons : (i) par transmission trans-placentaire et de façon anecdotique par transfert de plasma d'un individu malade à un individu sain, (ii) par transfert passif à des animaux, mais pouvant se révéler impossible si la cible reconnue n'est pas identique à celle de l'homme, (iii) et démontrer *in vitro* la capacité des aAc à détruire une cible portant l'aAg.

La **preuve indirecte** peut consister à l'immunisation d'un animal avec la cible antigénique si une maladie mimant celle de l'homme se développe. Lorsque la cible antigénique identifiée est différente chez l'animal, il est alors possible de l'immuniser avec l'Ag correspondant à son espèce. Cependant, l'immunisation requiert souvent l'ajout d'adjuvant qui peut biaiser la façon dont se manifeste la maladie. L'existence de souches de souris susceptibles à l'induction de maladie auto-immune est un atout dans ce type de modèle, comme la souche DBA1 dans l'arthrite rhumatoïde par exemple. Comme chez l'homme, cette susceptibilité est expliquée par la présence de CMH particuliers. Il existe également des modèles génétiques, comme les souris NOD développant un diabète ou les souris NZB développant une forme d'anémie hémolytique et des symptômes se rapprochant

du LES. Une autre preuve indirecte est apportée par la présence de l'aAc dans le sang ou l'organe touché.

Les **preuves circonstancielles** constituent des observations. Lorsque les critères précédents ne sont pas rencontrés, comme dans le cas des MNAI, elles constituent un faisceau d'arguments appuyant l'hypothèse de la pathogénicité des cellules ou des aAc détectés : (i) la présence de la même maladie dans la famille ou d'autres maladies auto-immunes chez l'individu ou sa famille, (ii) la présence d'un infiltrat inflammatoire dans l'organe cible, (iii) l'association à un haplotype particulier du CMH ou l'expression aberrante du CMH-II dans l'organe cible, (iv) une réponse favorable aux traitements immunosuppresseurs (plasmaphérèse, IVIg ou rituximab dans le cas des aAc).

Les maladies auto-immunes sont des maladies complexes à facteurs multiples, impliquant l'immunité cellulaire et humorale ou les deux à la fois, différents aAg, l'activation de multiples mécanismes au sein des immunités innée et acquise, ainsi que des facteurs génétiques et environnementaux. Il peut donc être relativement aisé de déterminer leur caractère auto-immun mais encore faut-il démontrer les mécanismes physiopathologiques. La pathogénicité des aAc a été démontrée pour certaines de ces maladies auto-immunes lorsque leur cible antigénique est extracellulaire ou localisée à la membrane cellulaire (Tableau 15). Nous détaillerons donc ici les divers modes d'action des aAc au cours des maladies dans lesquelles leur pathogénicité a été prouvée, ainsi que le cas particulier des aAg intracellulaires.

Cible	Maladie auto-immune	Induction de la maladie par transfert de l'aAc				Effets <i>in vitro</i>	Effet d'un traitement ciblant les LB ou Ac	
		Mère au fœtus	Humain à humain	Humain à animal	Animal à animal		Rituximab	Ivlg/PP
Erythrocytes	Anémie hémolytique	Oui			Oui			
Plaquettes	PTT	Oui	Oui				Oui	
Desmoglérine 1 ou 3	Pemphigus vulgaire et foliacé	Oui		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
BP180	Pemphigoïde bulleuse	Oui		Non antigènes différents	Oui	Oui requiert des neutro		Oui
Collagène VII	Epidermolyse bulleuse acquise			Oui réactivité croisée limitée	Oui	Oui requiert des neutro		Oui
Récepteur à la TSH	Maladie de Basedow	Oui	Oui					
FI et H+/K+ ATPase	Gastrite			Oui		Oui		
AChR	Myasthénie	Oui		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Canaux Calciques	Syndrome de Lambert-Eaton	Oui		Oui				Oui
Collagène II	Polyarthrite rhumatoïde			Oui	Oui	Oui	Oui	Oui efficacité limitée

Tableau 15 : Exemples d'auto-anticorps et arguments de pathogénicité

Ivlg : Immunoglobulines intraveineuses, PP : plasmaphérèse, PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique, FI : facteur intrinsèque, neutro : polynucléaire neutrophile (Rowley et al. 2015)

2. Mécanismes d'action des auto-anticorps pathogènes

Les aAc agissent via des modes d'action similaires à ceux des Ac classiques avec quatre mécanismes principaux : la cytotoxicité médiée par le complément ou CDC (*Complement-Dependent Cytotoxicity*), la cytotoxicité médiée par des cellules ou ADCC (*Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity*), la formation de complexes immuns (Putterman C, 1996) et l'activation/blocage direct de récepteurs.

Le système du complément est un composant important de l'immunité innée, composé de plus de 30 protéines, solubles ou présentes à la surface des cellules. Il existe 3 voies d'activation différentes : la voie alterne, la voie des lectines (activées par des composants étrangers) et la voie classique activée par le complexe antigène-anticorps (IgM ou IgG). La voie classique est activée par le complexe C1 qui se lie au fragment Fc des anticorps, et donne lieu à la formation de la C3- convertase puis de la C5-convertase, permettant *in fine* la formation du C5b-9 ou complexe d'attaque membranaire. Le C5b-9 forme un pore qui, en s'insérant dans

la membrane cellulaire, induit la lyse cellulaire. Parallèlement au C5b-9, des anaphylatoxines et opsonines sont produites lors du clivage des divers composants (Figure 16, Sarma and Ward, 2011).

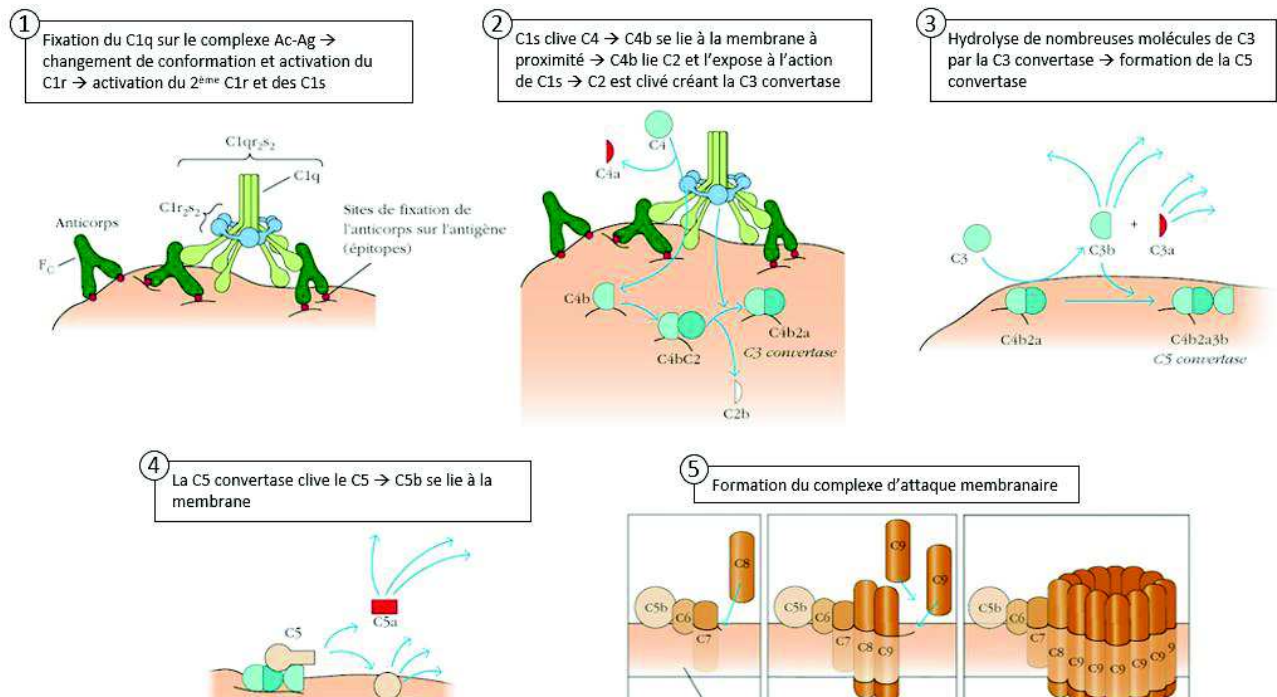


Figure 16 : Cytotoxicité dépendante du complément
Adapté du cours de Janis Kuby, 7^{ème} édition (Fig 6.5 et 6.10)

L'ADCC est principalement médié par les cellules NK et les macrophages, mais aussi par les éosinophiles et neutrophiles. Lorsqu'un anticorps est lié à son antigène, une cellule cytotoxique peut le reconnaître via le FcR. La cellule est alors activée et libère des enzymes lytiques, issues des lysosomes ou granules cytoplasmiques, qui induisent une lésion à la membrane de la cellule cible (Figure 17). Du TNF peut également être sécrété et avoir un effet cytotoxique, de même que des perforines (éosinophile, NK) selon un mécanisme semblable aux LT cytotoxiques.

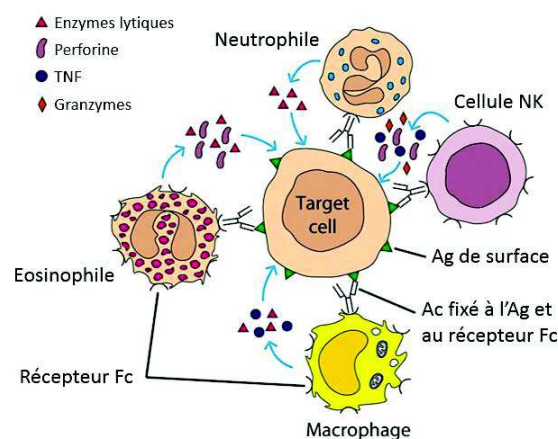


Figure 17 : Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps
Adapté du cours de Janis Kuby, 6^{ème} édition (Fig 14.15)

On peut diviser la réponse anticorps en 2 phénomènes, le premier impliquant le site de liaison à l'antigène (paratope) dans la région Fab de l'Ac et le deuxième impliquant des fonctions effectrices relatives au fragment cristallisable (Fc, Figure 18) (Rowley and Whittingham, 2015). L'activation de ces fonctions dépend donc de l'isotype voire de la sous-classe de l'aAc concerné.

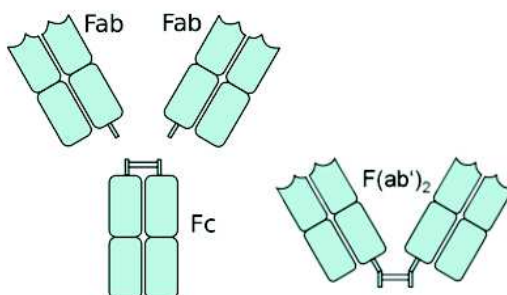


Figure 18 : Fragments obtenables à partir d'une immunoglobuline.

Les maladies auto-immunes sont des maladies complexes multifactorielles, rarement causées par un mécanisme unique. Dans ce chapitre, l'attention sera donc volontairement portée sur la composante aAc et non sur les mécanismes physiopathologiques globaux.

2.1. Auto-anticorps dirigés contre des cibles extracellulaires

2.1.1. Effets médiés par le fragment Fab

La preuve d'une pathogénicité directe du fragment Fab a été démontrée pour relativement peu d'aAc. En effet, cela implique l'utilisation d'une quantité importante d'IgG à partir de laquelle préparer le fragment Fab mais également un test fonctionnel pour étudier l'effet de sa liaison, telle que l'altération d'une fonction biologique, le blocage de l'activité ou l'inhibition de l'interaction de protéines, enzymes ou récepteurs (Rowley and Whittingham, 2015).

Des effets médiés par le Fab ont été principalement démontrés pour des récepteurs de surface et des canaux ioniques. Au cours des pemphigus (vulgaire et superficiel), les cibles des aAc impliquées sont la desmoglérine 1 (Dsg1) dans le pemphigus superficiel et/ou Dsg3 dans le pemphigus vulgaire, molécules d'adhésion intercellulaire du desmosome (Figure 19). La liaison des anticorps à leur cible induit une perte d'adhésion des kératinocytes (acantholyse et formation de bulles) et/ou des cellules épithéliales muqueuses (érosion). Les taux d'aAc anti-Dsg sont corrélés à l'activité de la maladie et disparaissent avec l'administration de

rituximab (Joly et al., 2017; Mouquet et al., 2008). Des transferts passifs réalisés chez la souris nouveau-née ont démontré un effet uniquement médié par le Fab. Aucune différence de pathogénicité n'existe entre l'IgG totale, le Fab'2, le Fab ou le scFv (*single chain fragment variable*), ou entre des souris déficientes ou non pour le complément prouvant donc une pathogénicité dépendant exclusivement de l'antigène reconnu (Anhalt et al., 1986; España et al., 1997; Payne et al., 2005; Rock et al., 1990).

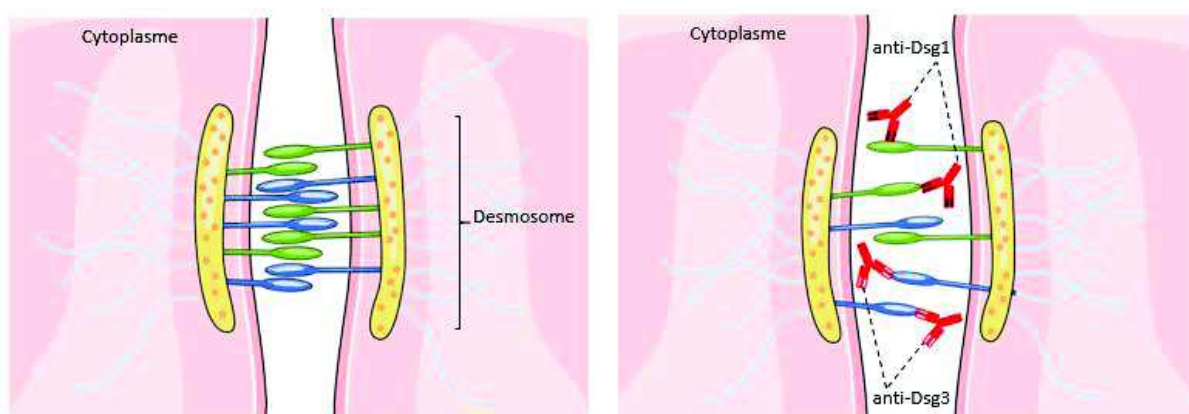


Figure 19 : Auto-anticorps anti-desmoglérine au cours des syndromes pemphigus
Les aAc sont dirigés contre les desmoglérines du desmosome, responsables des connections intercellulaires.

Dans le cadre de la myasthénie, la fixation de l'aAc entraîne une internalisation et une dégradation accélérée du récepteur (Figure 20) (Graus et al. 1997). Ce mécanisme est dû au pontage de 2 récepteurs et nécessite le fragment Fab'2. Ce mode d'action est également retrouvé dans le syndrome myasthénique de Lambert-Eaton (Peers et al., 1993). Les aAc anti-AChR sont également capables de bloquer la fixation du ligand à son récepteur. Cependant, l'injection de fragment Fab en plus d'aAc entier chez le rat est plutôt protectrice (Papanastasiou et al., 2000). Par ailleurs, les aAc anti-MuSK (*muscle-specific kinase*), ciblant une autre protéine de la jonction neuromusculaire, induisent une perte d'expression de l'AChR à la membrane post-synaptique chez la souris (Cole et al., 2008). Cependant, le mécanisme pathogène considéré comme majoritaire au cours de la myasthénie nécessite le fragment Fc. C'est l'activation du complément qui, par le dépôt de C5b-9, induit une destruction de la jonction neuro-musculaire (Nakano and Engel, 1993; Tüzün and Christadoss, 2013). En effet, les aAc anti-AChR sont de sous-classe IgG1 et IgG3, fortes activatrices du complément (Rødgaard et al., 1987). Contrairement aux aAc anti-MuSK, la corrélation entre les taux d'anti-AChR et l'activité de la maladie n'est pas systématique (Meriggioli and Sanders, 2012).

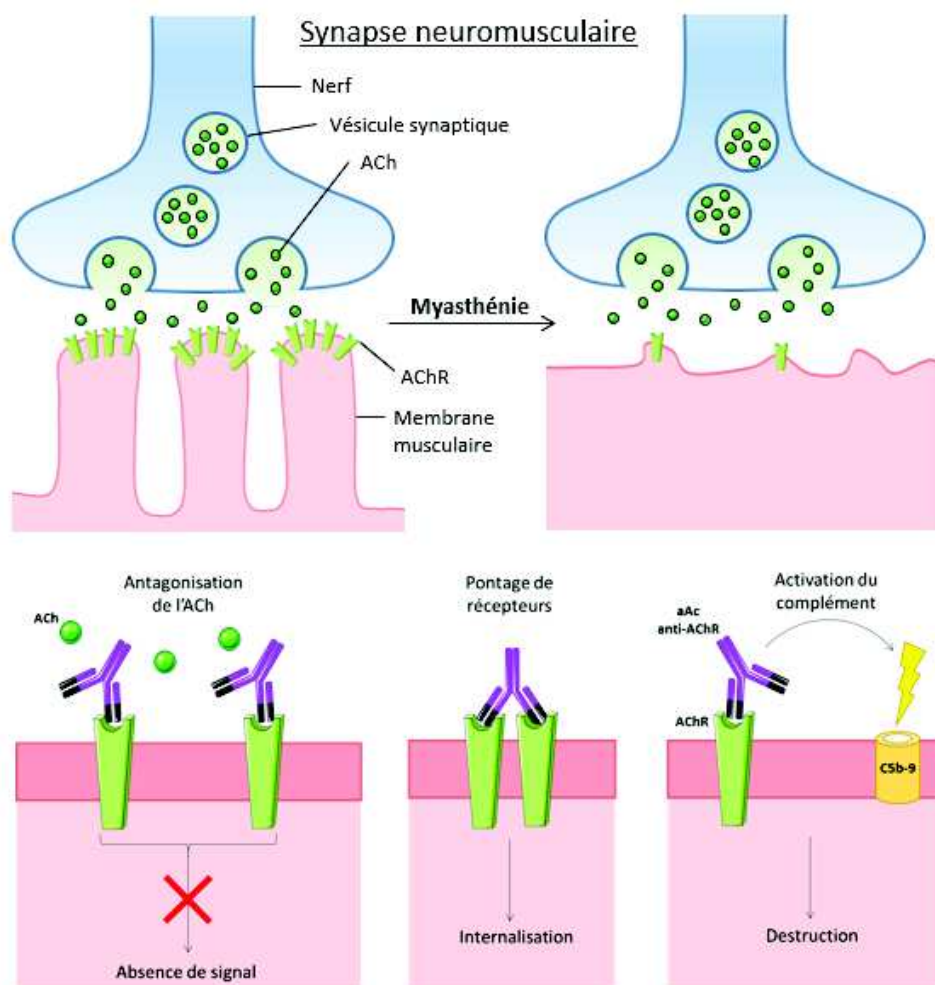


Figure 20 : Auto-anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine au cours de la myasthénie

Les aAc empêchent l'ACh de se fixer à son récepteur, bloquant la transmission du signal, induisent l'internalisation des récepteurs et la destruction de la membrane par l'activation du complément. Ceci induit une perte de la morphologie de la synapse neuromusculaire.

Dans d'autres cas, une médiation de la pathogénicité par le Fab n'a pas été mise en évidence pour certaines maladies auto-immunes mais la liaison des aAc impliqués à leur cible résulte néanmoins d'un blocage ou d'une stimulation fonctionnelle.

Par exemple, les aAc anti-récepteur de la TSH (TSHR) au cours de la thyroïdite auto-immune peuvent être activateurs ou bloquants et sont plus particulièrement retrouvés dans la maladie de Basedow, caractérisée par une hypothyroïdie (Figure 21). On les observe aussi dans la thyroïdite d'Hashimoto, caractérisée par une hypothyroïdie, mais chez une minorité des patients et n'y constituent pas la composante pathogène (Fröhlich and Wahl, 2017; Zaletel and Gaberscek, 2011). Là encore, l'activité agoniste des anti-TSHR serait due à un pontage des récepteurs par l'aAc (de Bruin and van der Heide, 1984). L'aAc mime la liaison de la TSH à son récepteur et induit la synthèse d'hormones thyroïdiennes échappant au rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire.

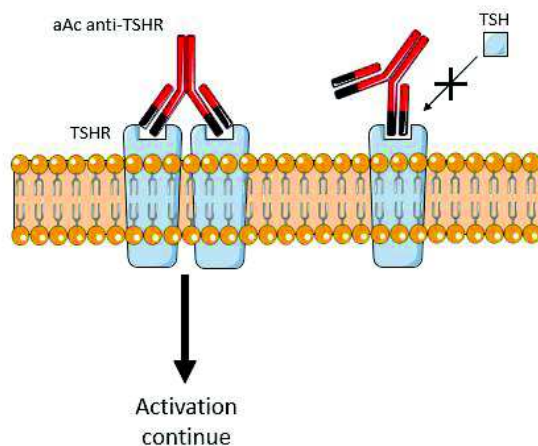


Figure 21 : Auto-anticorps anti-récepteur à la TSH dans les thyroïdites auto-immunes

Il existe des aAc stimulants, mimant la liaison du ligand à son récepteur, ou bloquants, agissant en antagoniste.

La gastrite auto-immune, ou anémie de Biermer est due à une malabsorption de la vitamine B12 (cobalamine). Trois types d'aAc sont à l'origine de la maladie : des aAc dirigés contre le facteur intrinsèque (FI) bloquant la liaison de la cobalamine au site récepteur sur le FI (Guéant et al., 1997), un aAc également dirigé contre le FI mais bloquant la liaison du complexe cobalamine-FI à son récepteur (Andersen et al., 2010), et enfin un aAc bloquant dirigé contre l'ATPase H^+/K^+ (Burman et al., 1989; Karlsson et al., 1988).

Le purpura thrombotique thrombocytopénique est caractérisé par une thrombocytopénie, une anémie hémolytique micro-angiopathique et des dommages tissulaires dus à une ischémie. Ici, les aAc sont dirigés contre une enzyme, ADAMTS13, responsable du clivage des multimères de facteur de Willebrand. Le facteur de Willebrand est sécrété par les cellules endothéliales sous forme de larges multimères qui lient et agrègent les plaquettes avec une grande affinité. Lors du PTT, les aAc inhibent l'activité de ADAMTS13, conduisant à la persistance dans la circulation de larges complexes facteur de Willebrand-plaquettes à l'origine de microthrombi et d'une thrombocytopénie (Joly et al., 2017; Kremer Hovinga et al., 2017). La preuve de la pathogénicité de ces aAc a été montrée chez le babouin par transfert passif (Feys et al., 2010).

2.1.2. Effets médiés par le fragment Fc

La reconnaissance de l'Ag est médiée par le Fab mais dans le cas de certaines maladies auto-immunes, la seule liaison paratope-épitope n'entraîne pas nécessairement un blocage ou une stimulation et donc un effet pathogène. D'autres facteurs, indépendants de la reconnaissance de l'Ag sont impliqués et reposent sur le fragment Fc de l'Ac. Ici, l'effet pathogène sera dépendant de l'isotype et de la sous-classe de l'Ac : activation du complément, opsonisation, ou cytotoxicité cellulaire. L'activation des cellules impliquées dans ces

mécanismes se fera selon le type de récepteur au fragment Fc (FcR) exprimé à leur surface. La diversité des récepteurs ainsi que des cellules sur lesquelles ils sont exprimés induit une grande hétérogénéité des effets que peuvent engendrer les aAc (Tableau 16, Tableau 17).

	% des Ig du sérum	Fixation du complément	Opsonisation	Traversée du placenta
IgG1	50	++	+++	+
IgG2	17	+	+++	
IgG3	5	+++	+++	
IgG4	3	-	-	
IgM	10	+++	+	-
IgA	15	-	-	-
IgD	<0,5	-	-	-
IgE	<0,01	-	-	-

Tableau 16 : Sous-classes d'immunoglobulines chez l'homme
(Schroeder and Cavacini, 2010)

Récepteurs	Affinité		Expression
FcγRI (CD64)	Grande	IgG1>>>IgG2, IgG3 et IgG4	Monocytes, macrophages, DC, neutrophiles, éosinophiles
FcγRIIA (CD32A)	Faible	IgG1 et IgG3>>>IgG2>IgG4	Monocytes, macrophages, DC, plaquettes, neutrophiles
FcγRIIB (CD32B)	Faible	IgG1>IgG3>>IgG4>IgG2	LB, plasmocytes, monocytes, macrophages, DC, neutrophiles, basophiles, mastocytes
FcγRIIC (CD32C)	Faible	IgG1>IgG3>>IgG4>IgG2	NK
FcγRIIIA (CD16A)	Faible	IgG1>>IgG2 et IgG3>IgG4	NK, monocytes, macrophages, DC
FcγRIIIB (CD16B)	Faible	IgG1 et IgG3>>IgG2 et IgG4	Neutrophiles, mastocytes, éosinophiles

Tableau 17 : Récepteurs gamma Fc

FcγR : récepteur gamma Fc. Vert : récepteur activateur, Rouge : récepteur inhibiteur, DC cellule dendritique (Guilliams et al., 2014; Smith and Clatworthy, 2010)

Un des meilleurs exemples du rôle des sous-classes d'Ac au cours d'une maladie auto-immune est probablement l'anémie hémolytique auto-immune (AHAI). En effet, chez l'homme les quatre isotypes d'IgG ainsi que des IgM dirigées contre les globules rouges sont observés. Les mécanismes menant à l'anémie ainsi que la gravité sont dépendants de la sous-classe rencontrée chez le patient. Les mécanismes impliqués sont divers et regroupent le CDC, l'ADCC, l'agglutination ainsi que la phagocytose par les macrophages (Figure 22) (Barcellini, 2015). De nombreuses études ont démontré ces mécanismes via l'utilisation d'anticorps monoclonaux (AcM) dérivés de la souris NZB développant spontanément une forme d'AHAI. L'injection à des souris de variants isotypiques, de faible ou forte affinité a clairement montré des différences de pathogénicité entre les sous-classes, indépendantes de l'Ag reconnu mais

corrélées à l'induction de la phagocytose, de l'ADCC ou du CDC selon la liaison de l'Ac à l'un ou l'autre des FcR (Fossati-Jimack et al., 1999, 2000; da Silveira et al., 2002).

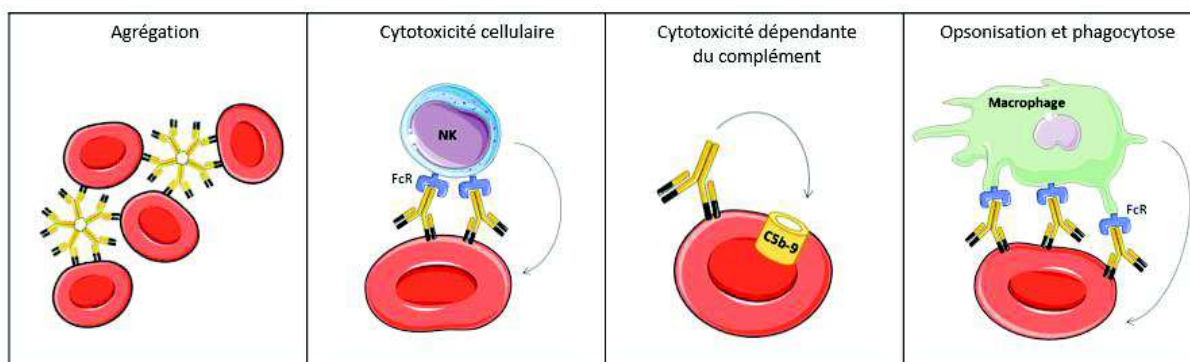


Figure 22 : Divers mécanismes impliqués dans l'anémie hémolytique auto-immune

La diversité des aAc dirigés contre les globules rouges induit des mécanismes comme l'agrégation (IgM), l'ADCC, le CDC et la phagocytose.

Les maladies auto-immunes de la jonction dermo-épidermique regroupent la pemphigoïde bulleuse, la pemphigoïde des muqueuses et l'épidermolyse bulleuse acquise (EBA). Le site lésionnel se trouve à la jonction derme-épiderme et conduit à la formation de bulles. Au cours de ces pathologies, le derme et l'épiderme se dissocient suite à la perte d'adhésion entre les hémidesmosomes et la matrice extracellulaire dermique (Lin et al., 2012). Les aAc impliqués au cours des pemphigoïdes reconnaissent entre autres BP180, protéine de l'hémidesmosome impliquée dans la liaison des kératinocytes à la membrane basale (Giudice et al., 1993). Au cours de l'EBA, l'aAc est dirigé contre le collagène de type VII, protéine dermique indispensable à l'adhésion dermo-épidermique (Gupta et al., 2012). La pathogénicité de ces aAc n'a pas été étudiée par injection directe des aAc humains réagissant mal avec les Ag murins, mais avec des aAc issus d'immunisation de lapin ou de mouton à l'Ag murin. Ces transferts ont démontré le rôle prépondérant du complément dans la pathogénicité ainsi que celui des neutrophiles (Chiriac et al., 2013; Lin et al., 2012; Sitaru et al., 2005).

Il est intéressant de noter que dans les pemphigus et les pemphigoïdes, des aAc pathogènes et non-pathogènes peuvent coexister, et que des aAc pathogènes dirigés contre différents épitopes peuvent avoir des effets synergiques (Csorba et al., 2014; Kawasaki et al., 2006). De plus, les IgG4 dont la capacité à activer le complément et les FcR est faible sont particulièrement associées au pemphigus vulgaire (Jones et al., 1988), alors que la pemphigoïde bulleuse est associée aux IgG4 et 1 avec une association des IgG1 aux phases

aiguës (Hofmann et al., 2002). Les épitopes reconnus ainsi que la sous-classe d'IgG sont donc tous deux importants au cours de ces maladies auto-immunes spécifiques d'organe.

La polyarthrite rhumatoïde et le LES sont les principales maladies auto-immunes dont la pathogénicité implique des complexes immuns. Il sera également traité du LES dans la partie consacrée aux aAg intracellulaires.

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie complexe dont les mécanismes pathogènes ne sont pas encore complètement élucidés, mais qui implique cependant la présence de complexes immuns. La cible touchée est l'articulation avec une inflammation chronique du synovium conduisant à la destruction du cartilage et à une érosion osseuse. Il existe deux types d'aAc dans l'arthrite rhumatoïde : le facteur rhumatoïde (Ac dirigé contre le fragment Fc des IgG) et les aAc dirigés contre les protéines citrullinées (anti-CCP ; fibrine, fibrinogène, émolase, collagène, vimentine et *Epstein-Barr nuclear antigen*) retrouvés dans le liquide synovial des patients (Catrina et al., 2016; Uysal et al., 2009). L'étude de la pathogénicité est réalisée sur des modèles murins d'immunisation avec le collagène de type II, ou issu du transfert d'AcM provenant de ces immunisations, car le transfert passif d'aAc humain n'induit qu'une pathogénicité transitoire (Nandakumar et al., 2003; Stuart et al., 1983; Wooley et al., 1984). Notamment, l'épitope reconnu est d'importance car le ciblage par de multiples AcM permet une gradation de la sévérité de l'arthrite rhumatoïde (Nandakumar and Holmdahl, 2005; Terato et al., 1992). Des résultats récents ont mis en évidence la présence et la pathogénicité chez la souris d'aAc dirigés contre des protéines carbamylées (Dekkers et al., 2017). Des études ont suggéré l'implication des neutrophiles, du complément, des monocytes et des granulocytes qui seraient activés par la présence de complexes immuns, conduisant à la libération de cytokines ainsi qu'à la destruction de l'articulation (Manivel et al., 2015; Mullazehi et al., 2006; Nandakumar et al., 2003; Wang et al., 2000). L'arthrite rhumatoïde n'est donc pas uniquement due à la présence de complexes immuns mais à des mécanismes multiples.

Le LES est une pathologie impliquant plusieurs mécanismes immunologiques. L'atteinte rénale est la caractéristique clinique la plus commune et grave observée au cours du LES. Elle est médiée par la présence de dépôts de complexes immuns à l'origine de glomérulonéphrite (Moulton et al., 2017). Il a été démontré que les patients atteints de LES ont un défaut de dégradation des complexes immuns par le foie et la rate (Davies et al., 1992; Isenberg et al.,

1988). Ces complexes immuns contiennent les aAc anti-dsDNA et anti-chromatine dont les niveaux sont corrélés à l'activité de la maladie (Dema et al., 2014), et peuvent activer le complément (Ceribelli et al., 2009). En effet, des dépôts de complément sont retrouvés dans le rein et il est possible d'éluer des anti-dsDNA à partir de rein de patient (Kalaaji et al., 2007). Les principales sources d'aAg sont les corps apoptotiques contenant des nucléosomes dans le rein (Kalaaji et al., 2007), des fragments de chromatine circulants ainsi que des Ag rénaux avec lesquels les anti-dsDNA sont capables de cross-réagir (Dema and Charles, 2016).

2.1.3. Influence de la glycosylation des auto-anticorps

Les effets médiés par le fragment Fc peuvent être modulés par sa caractéristique de glycosylation. Plus particulièrement, l'absence de sialylation a été mise en cause dans diverses maladies auto-immunes pour avoir des propriétés pro-inflammatoires. L'absence de sialylation des IgG1 augmente leur affinité pour le C1q et augmente leur pouvoir d'activation du CDC. Ainsi l'induction de la sialylation des Fc était capable d'induire une rémission clinique chez des patients atteints de polyneuropathie démyélinisante inflammatoire chronique (Quast et al., 2015). Au cours de la granulomatose avec polyangéite, le taux de sialylation des anti-PR3 module le burst oxydatif des neutrophiles relié à l'activité de la maladie (Espy et al., 2011). La sialylation est également impliquée dans le potentiel pathogène des aAc au cours du LES (Magorivska et al., 2016), et au cours l'arthrite rhumatoïde via un axe IL23-Th17 (Figure 23) (Ohmi et al., 2016; Pfeifle et al., 2016).

La nature de la glycosylation pourrait, parmi d'autres mécanismes, être impliquées dans l'efficacité de la thérapie IVIg (Schwab and Nimmerjahn, 2013).

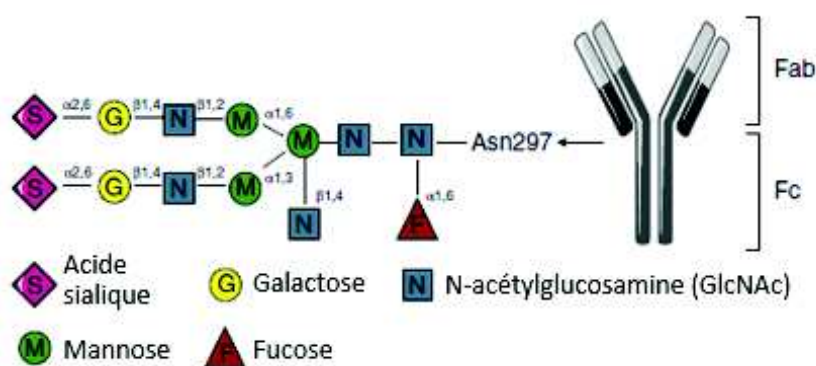


Figure 23 : Glycosylation des IgG1 anti-collagène de type II

Glycosylation de l'asparagine 297 des IgG1 anti-CII dans un modèle d'arthrite induite au collagène. Les acides sialiques sont diminués chez les souris WT qui développent la maladie mais présents chez les souris IL-23 $\alpha^{-/-}$ développant les anti-CII mais pas l'arthrite associée (Pfeifle et al. 2016)

Les aAc, via leurs fragments Fab, Fc et la possibilité de glycosylation, peuvent exercer des effets multiples et modulables, de façon isolée, ou à travers d'autres partenaires.

2.2. Cas particulier des auto-antigènes intracellulaires

Les aAc décrits ci-dessus sont dirigés contre des cibles exposées, et donc accessibles aux aAc par la circulation. Les aAg intracellulaires localisés dans le cytoplasme, les ribosomes, les mitochondries, ou le noyau, ne sont pas directement accessibles aux aAc. La plupart ont une expression ubiquitaire et sont largement représentés au sein des cellules. D'autres sont spécifiques d'organe ou de tissu comme les anti-Yo ou anti-Hu dans le syndrome neurologique paranéoplasique ou les anti-Hsp70 dans la rétinopathie auto-immune (Tableau 18). L'accessibilité de la cible par l'aAc, nécessaire pour exercer son pouvoir pathogène, est donc source de questionnements.

Auto-antigène	Localisation	Maladie auto-immune associée
RNP	Noyau	Connectivite mixte, LES
Ro, La	Noyau	Syndrome de Gougerot-Sjögren, LES
dsDNA	Noyau	LES
Protéine P ribosomique	Cytoplasme	
PDC-E2	Mitochondrie	Cirrhose biliaire primitive
Yo	Cytoplasme	Syndrome neurologique paranéoplasique (SNP)
Hu	Noyau, cytoplasme	
GAD	Cytoplasme	Diabète de type I, SNP
Protéinase 3 et myéloperoxydase	Cytoplasme	Vascularites
Hsp70	Cytosol	Rétinopathie

Tableau 18 : Cibles intracellulaires des auto-anticorps, localisation et maladies auto-immunes associées
(Racanelli et al. 2011; Rowley et al. 2015)

2.2.1. Exposition membranaire conditionnelle des auto-antigènes intracellulaires

Une première réponse à la question de l'accessibilité des aAg intra-cytoplasmiques est apportée par un modèle particulier : celui des vascularites à aAc anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (*anti-neutrophil cytoplasmic antibodies* : ANCA). Dans ce modèle, les aAg sont intracellulaires mais accèdent à la surface cellulaire dans certaines conditions. Les aAc présents aux cours des vascularites à ANCA reconnaissent soit la protéinase 3 (PR3) soit la myéloperoxydase (MPO), qui sont toutes les deux des protéines intracytoplasmiques du polynucléaire neutrophile. Chaque aAc (anti-PR3 et anti-MPO) définit d'ailleurs un cadre nosologique particulier. Les anti-PR3 sont associés à la granulomatose avec polyangéite et les anti-MPO à la polyangéite microscopique ou à la granulomatose éosinophilique avec polyangéite. La pathogénicité des ANCA est actuellement bien documentée. Bien que le sujet soit toujours source de débat, la persistance des auto-anticorps est associée au risque de rechute dans certaines études même si ce n'est pas toujours vrai à l'échelle individuelle (Cohen Tervaert and Damoiseaux, 2012; Sanders, 2006). Le transfert placentaire des anti-MPO peut être pathogène pour le nouveau-né même si ce n'est pas systématique (Bansal and Tobin, 2004; Silva et al., 2009). Ces deux observations pourraient s'expliquer par l'existence d'ANCA pathogènes et non-pathogènes chez les patients (Roth et al. 2013). Le rituximab et les IVIg ont montré leur efficacité (Crickx et al., 2016; Daikeler et al., 2015; Hartung et al., 2009). Des modèles animaux ont clairement démontré la pathogénicité des aAc anti-MPO et anti-PR3 chez la souris mettant en évidence la nécessité d'une exposition particulière des aAg pour que les aAc soient pathogènes (Little et al., 2012; Schreiber et al., 2006; Xiao et al., 2002). En effet, la localisation cellulaire des aAg MPO et PR3 peut se modifier. En particulier, lors de l'activation des polynucléaires neutrophiles par le TNF α ou le phorbol myristate acétate, les 2 protéines sont transloquées à la membrane de façon dose-dépendante ce qui les rends donc accessibles aux aAc (Figure 24) (Csernok et al., 1994; Van Rossum et al., 2005). Cette capacité d'une activation à induire une expression aberrante des aAg MPO et PR3 pourrait impliquer des mécanismes épigénétiques. En effet, les patients présentent des niveaux de méthylation d'histones, responsables du silençage génétique, défectueux au niveau des gènes codant pour les protéines MPO et PR3 (Ciavatta et al., 2010). La pathogénicité des ANCA est cependant complexe et passe également, entre autre, par leur fixation au Fc γ RIIa à la surface des polynucléaires neutrophiles (Porges et al., 1994). Le rôle pathogène des aAc anti-MPO et anti-PR3 est donc relativement clair et s'explique entre autres par la présence des aAg à la surface des polynucléaires neutrophiles après leur activation. Cependant,

les mécanismes physiopathologiques de nombreuses maladies auto-immunes ne sont pas aussi simples et posent la question de la capacité des aAc à pénétrer dans les cellules pour atteindre leur cible.

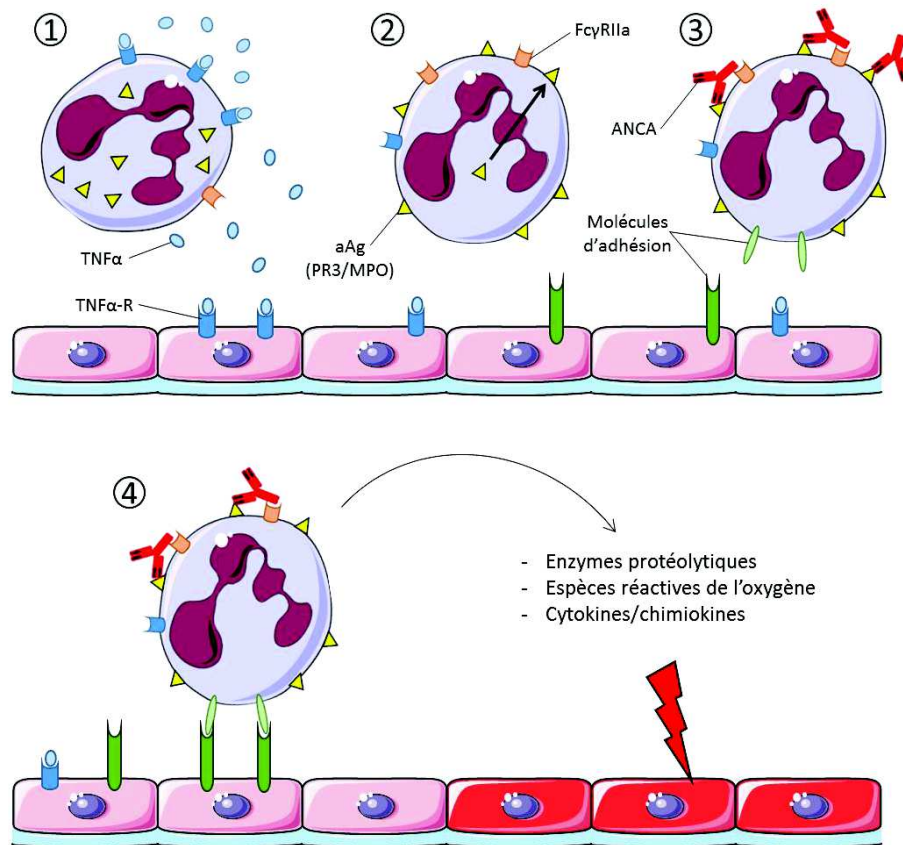


Figure 24 : Mécanismes pathogènes liés aux auto-anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles
 1 – Priming des neutrophiles et des cellules endothéliales par le TNF. 2 – Translocation des aAg PR3 et MPO à la surface des neutrophiles. 3 – Activation des neutrophiles par l'interaction simultanée des ANCA avec l'aAg et le FcγRIIIa. Le priming induit l'expression de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales et des neutrophiles induisant une forte adhésion. 4 – Relargage d'espèces réactives de l'oxygène et d'enzymes protéolytiques qui endommagent le vaisseau et de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires recrutant d'autres effecteurs. (Brogan and Eleftheriou, 2017; Fujii, 2014)

2.2.2. Pénétration intracellulaire des aAc

La capacité des aAc à rentrer dans les cellules a été démontrée pour certains d'entre eux *in vitro* mais les mécanismes restent encore mal connus. Cette pénétration pourrait s'effectuer par différents mécanismes, via l'utilisation de récepteurs au Fc ou la présence de séquences peptidiques riches en arginine mais aussi sûrement par des processus encore inconnus.

2.2.2.1. Pénétration intracellulaire médiée par le Fc

La capacité de pénétration d'un aAc via le FcR à la surface des LT a été observée pour la première fois avec les anti-RNP en 1978 (Alarcon-Segovia et al., 1978), suivie par les anti-DNA (Alarcón-Segovia and Llorente, 1983). Le même récepteur semble être utilisé pour la pénétration ainsi que pour l'ADCC, ce dernier étant inhibé lorsque les anti-RNP pénètrent dans la cellule (Llerena et al., 1981). Cependant, une autre étude a suggéré la possibilité que les anti-RNP puissent pénétrer via l'interaction avec leur aAg à la surface des LT (Ma et al., 1993).

La pénétration des anti-Ro et anti-La passe probablement par le FcR et induit l'apoptose ainsi qu'une surexpression des FcyR dans une lignée de cellules salivaires (Lisi et al., 2007, 2008).

Certains FcR sont exprimés par les cellules du cerveau (microglie, astrocytes, oligodendrocytes et neurones) (Okun et al., 2010) et pourraient être à l'origine de la pathogénicité des anti-Yo au cours des syndromes neurologiques paranéoplasiques. En effet, en plus de la capacité des cellules de Purkinje à internaliser des Ig (Hill et al., 2009), les anti-Yo sont capables de reconnaître leur Ag au sein de ces cellules (Greenlee et al., 1995, 2015).

Un autre récepteur, le récepteur des immunoglobulines polymériques, pourrait également être impliqué dans la pénétration des IgA. Il a été impliqué de façon partielle dans la pénétration des IgA anti-PDC-E2 au cours de la cirrhose biliaire primitive (Malmborg et al., 1998). Suite à leur pénétration, les anti-PDC-E2 colocalisent avec leur cible à l'intérieur de la cellule.

Il est donc possible que la pénétration des aAc passe par les FcR mais cette hypothèse manque de preuves récentes et irréfutables.

2.2.2.2. Pénétration intracellulaire indépendante du Fc

La meilleure description d'un mécanisme de pénétration intracellulaire est celle d'un AcM murin anti-dsDNA, 3E10, capable d'entrer à l'intérieur de cellules et se localiser dans le noyau, sans causer de dommages (Zack et al., 1996). Ce mécanisme nécessite le transporteur de nucléoside ENT2, et peut se réduire au fragment Fv (Hansen et al., 2007). L'AcM 3E10 a été étudié de façon extensive de part son intérêt dans l'apport de thérapeutiques à l'intérieur de cellules cancéreuses par exemple (Weisbart et al., 2012).

Les anti-nucléoline, rencontrés au cours de la sclérodermie et du LES nécessitent la présence de leur aAg à la surface des cellules cibles. En effet, dans une étude, seules les lignées cellulaires exprimant la nucléoline à la surface permettaient à l'aAc de gagner l'intérieur de la cellule et au nucléole par un processus relatif à la pinocytose (Deng et al., 1996).

La pénétration des aAc anti-Sm et anti-La n'est pas dépendante de leur isotype et seuls ceux possédant une réactivité croisée envers le dsDNA en sont capables. De plus, une absence d'accumulation au sein des vésicules endocytiques montre l'existence d'un mécanisme distinct de l'endocytose conventionnelle médié par les récepteurs (Deng, 2000).

Au cours du syndrome neurologique paranéoplasique, les anti-Hu, contrairement aux anti-Yo, ne dépendent pas du FcR pour pénétrer au sein des cellules cibles (Hormigo et al., 1996).

Dans le cas des aAc anti-protéine P ribosomale, la pénétration n'est pas non plus dépendante du FcR mais vraisemblablement d'une phosphoprotéine de 38 kDa exprimée à la surface de divers types cellulaires (Koscec et al., 1997; Reichlin, 1998).

2.2.2.3. Pénétration intracellulaire dépendante des résidus arginine

L'importance d'acides aminés chargés positivement pour la pénétration des anti-dsDNA, et plus particulièrement des arginines, a été mise en lumière en 1998. Cette étude a pu montrer la présence d'arginines au sein des CDR (*complementary determining region*) des anti-dsDNA étudiés, ainsi que la capacité des Fab et peptides dérivés de ces CDR à faire pénétrer un chargement à l'intérieur de lymphocytes (Ternynck et al., 1998). De plus, la présence d'arginines au sein des CDR influe sur l'affinité des Ac pour leur cible (Rahman, 2004). Une autre étude vient appuyer l'hypothèse du rôle central des arginines en démontrant que leur remplacement par un autre acide aminé au sein du CDR diminue grandement leur capacité de pénétration de même que leur liaison à l'Ag (Song et al., 2008). Plus précisément, les arginines présentes dans le CDR3 de la chaîne lourde sont responsables de ce phénomène puisque le domaine VH mais pas VL d'un AcM anti-dsDNA était capable de pénétrer dans une cellule. De plus, un seul résidu arginine ne semble pas suffisant à la pénétration (Im et al., 2015). Il est intéressant de noter que le rôle des arginines dans la pénétration cellulaire est également utilisé par certains « *cell-penetrating peptides* » s'inspirant de peptides viraux ou de drosophile (Futaki et al., 2001).

La capacité d'un aAc à pénétrer dans une cellule et d'induire son apoptose pourrait alors être à l'origine de la libération d'aAg ou néo-aAg et de ce fait augmenter la réponse auto-immune (Rowley and Whittingham, 2015).

2.2.3. Effets intracellulaires des auto-anticorps

Parallèlement à l'étude de la capacité de pénétration des aAc dans les cellules, leur effet inhibiteur sur l'aAg associé, ou délétère d'une façon générale, a été démontré principalement *in vitro* mais également *in vivo*, appuyant l'hypothèse de leur pathogénicité.

De nombreux travaux ont démontré plusieurs mécanismes induits par les anti-dsDNA dans le LES. Des AcM issus de souris NZB (développant spontanément des symptômes similaires au LES) sont capables d'induire l'apoptose des cellules humaines dans lesquelles ils pénètrent, avec un tropisme pour les cellules immatures (Ruíz-Argüelles et al., 1998). Cette apoptose serait due à 2 voies différentes, principalement la voie mitochondriale, mais également la voie membranaire (Rivadeneyra-Espinoza and Ruiz-Argüelles, 2006). La capacité de ces aAc à hydrolyser l'ADN simple ou double brin pourrait être une des causes de l'induction de l'apoptose médiée par les caspases (Lee et al., 2007). Sur des cellules mononuclées du sang, des anti-dsDNA humains et murins sont également capables d'induire un état d'activation anormal avec l'expression de marqueurs d'activation (Portales-Pérez et al., 1998). Les anti-dsDNA reconnaissent de multiples cibles exprimées différenciellement à la surface de multiples types cellulaires, pouvant expliquer l'atteinte multi-tissulaire observée dans le LES (Raz et al., 1993).

Les aAc anti-protéine P ribosomale, retrouvés chez 15% des patients atteints de LES inhibent la traduction protéique dans un système synthétique ainsi que dans des cultures de fibroblastes via leur liaison aux ribosomes à l'intérieur de la cellule (Stacey et al., 1988).

Les anti-Yo, suite à leur pénétration dans les cellules de Purkinje, sont capables d'induire leur mort au sein de culture de coupes cérébelleuses (Greenlee et al., 2015).

Au cours de la cirrhose biliaire primitive, deux aAc différents ont été démontrés comme étant inhibiteurs envers leurs cibles respectives (Fregeau et al., 1989; Uibo et al., 1990). L'enzyme cible ayant une expression ubiquitaire, la spécificité tissulaire de l'atteinte pourrait être due à l'expression du récepteur aux immunoglobulines polymériques et donc à la capacité de transcytose des cellules. Des IgA anti-PDC-E2 ont été retrouvés dans la bile, la salive et

l'urine de patients (Nishio et al., 1997; Palmer et al., 2000; Reynoso-Paz et al., 2000; Tanaka et al., 2000). La pathogénicité de ces aAc a été démontrée sur une lignée cellulaire transfectée avec le récepteur aux immunoglobulines polymériques. Les IgA induisaient une activation des caspases titre-dépendante, pouvant induire une apoptose (Matsumura et al., 2004).

Il est donc possible que des aAc dirigés contre des cibles intracellulaires soient capables de pénétrer à l'intérieur de cellules cibles et y exercer des effets pathogènes directs par des mécanismes encore mal décrits.

3. Pathogénicité des auto-anticorps spécifiques des myosites

3.1. Preuves directes

Les aAc spécifiques des MAI sont classés dans la catégorie des aAc ciblant un aAg intracellulaire. Dans l'ensemble, les preuves directes de la pathogénicité des aAc au cours des MAI sont très rares. Il existe deux cas décrivant la mort d'un fœtus/nouveau-né suite au développement d'une MAI à aAc anti-PL7 et à aAc anti-Jo1 pendant la grossesse (Hung et al., 2006; Satoh et al., 1994). Outre ces deux cas, il existe très peu d'observations de ce type pour lesquelles un aAc est décrit. L'intégralité des cas observés fait l'état d'une déclaration de la maladie pendant la grossesse, dont l'origine pourrait se trouver dans l'apport de nouveaux aAg par la présence du fœtus (Bauer et al., 1979). Ces grossesses compliquées d'une myosite, surtout une DM, mènent dans 50% des cas à la mort du fœtus, principalement lorsque la myosite se déclare lors du premier trimestre. Si elle se déclare après, le nouveau-né n'est majoritairement pas atteint (Gutiérrez et al., 1984; Kanoh et al., 1999). Ces données n'appuient donc pas l'hypothèse d'une pathogénicité des aAc spécifiques des MAI mais leur faible nombre ainsi que l'absence d'information sur les aAc impliqués ne permettent pas de conclure.

Selon les critères de Witebsky, la destruction d'une cible portant un aAg par l'aAc correspondant constitue une preuve directe. A ce titre, la pathogénicité des aAc anti-SRP et anti-HMGCR a été montrée sur des cultures de myoblastes et myotubes *in vitro* par un travail collaboratif avec notre laboratoire (Arouche-Delaperche et al., 2017). En effet, suite à l'ajout des aAc dans le milieu de culture, les aAc induisent une diminution de la fusion des myoblastes en myotubes et une diminution de leur surface via une diminution de la production d'IL-4 et d'IL-13. Les aAc induisent également une atrophie des myotubes avec une augmentation d'expression des gènes associés, ainsi que de l'IL-6 et des espèces réactives de l'oxygène. Cependant, bien qu'elles montrent un effet des aAc anti-SRP et anti-HMGCR, ces expériences ne répondent pas à la question de la localisation de la cible ou de la capacité des aAc à rentrer dans les cellules. Ces travaux ont été réalisés sans ajout de complément, suggérant un effet lié au fragment Fab.

3.2. Preuves indirectes

Les preuves indirectes sont plus solides mais n'existent que pour les anti-Jo1 et les anti-FHL1 (*Four and a half LIM domains 1*). Le premier modèle spécifique est issu de l'immunisation sous-cutanée de souris avec l'histidyl-tRNA synthétase (Jo1) en présence d'adjuvant (CFA). Cette immunisation induit une inflammation du muscle et du poumon semblable à ce qui peut être observé chez l'homme (Katsumata et al., 2007).

Par la suite, la même équipe a développé un autre modèle reposant sur une immunisation intramusculaire sans adjuvant, induisant une réponse inflammatoire plus importante du muscle dès 7 jours post-immunisation et pendant 7 semaines. Cette immunisation induit une réponse B et T spécifique, mais l'immunisation de souris Rag2^{-/-} et TLR4^{-/-} était également capable d'induire une inflammation du muscle, impliquant un rôle de l'immunité innée à l'origine de la maladie (Soejima et al., 2011).

Concernant les anti-FHL1, les souris utilisées exprimaient de façon inductible le CMH-I dans le muscle induisant une importante dégénérescence du muscle (nécrose, régénération, présence de macrophages). Ces souris étaient immunisées avec FHL1 en CFA puis recevaient un boost en IFA. Suite à l'immunisation, une diminution de la force musculaire, du poids et de la survie était observée, ainsi que des dommages musculaires à l'histologie, et l'augmentation de l'expression de gènes reflétant un infiltrat composé de LT (Albrecht et al., 2015).

Ces résultats constituent des preuves indirectes de la pathogénicité des aAc anti-Jo1 et anti-FHL1 dans les MAI. A ce jour, aucune preuve de la capacité des MSA à pénétrer dans les cellules n'a été démontrée.

3.3. Preuves circonstancielles

Les preuves circonstancielles concernant la corrélation entre les taux d'aAc et l'activité de la maladie ont été observées pour les anti-Jo1, anti-MDA5, anti-SRP et anti-HMGCR. Les anti-Jo1 corrélaient de façon modeste avec l'atteinte musculaire et articulaire. Cependant, dans la même étude, un sous-groupe de patients suivis de façon longitudinale montre une forte corrélation entre les taux d'aAc anti-Jo1 avec les paramètres cliniques musculaire, articulaire, pulmonaire et l'activité globale de la maladie (Stone et al., 2007). Concernant les anti-MDA5, de nombreuses études ont démontré cette corrélation, accompagnée d'un aspect pronostique dans la DM amyopathique associée à une pneumopathie interstitielle, et leur

disparition lors de la rémission (Gono et al., 2012b; Kobayashi et al., 2011; Muro et al., 2012; Sato et al., 2012, 2013; Takada et al., 2015).

La corrélation entre les aAc anti-SRP et l'activité de la maladie a été étudiée et mise en évidence de façon longitudinale, par une étude collaborative du laboratoire ainsi qu'une deuxième étude, donnant plus de force à l'étude qu'une corrélation à un temps donné (Aggarwal et al., 2015; Benveniste et al., 2011). Concernant les anti-HMGCR, l'étude de Werner n'a mis en évidence une corrélation qu'avec les patients ayant pris des statines (Werner et al., 2012). En revanche, d'autres études ont mis en évidence une corrélation entre les aAc anti-HMGCR et les taux de CK et/ou la force au moment du diagnostique quel que soit l'exposition aux statines (Allenbach et al., 2014; Alshehri et al., 2015; Ge et al., 2015). Contrairement aux études des aAc anti-SRP, l'absence de normalisation des niveaux d'aAc anti-HMGCR chez les patients en rémission pourrait s'expliquer par une polyclonalité de la réponse aAc (Ge et al., 2015; Werner et al., 2012). De façon générale pour les MNAI à aAc anti-SRP et anti-HMGCR, l'efficacité des traitements ciblant les LB ou les Ac (rituximab, plasmaphérèse, IVIg), sont en faveur de leur pathogénicité (Ashton et al., 2016; Benveniste et al., 2011; Kassardjian et al., 2015; Kawabata et al., 2012; Nichols et al., 2015; Ramanathan et al., 2015; Suzuki et al., 2012; Valiyil et al., 2010; Watanabe et al., 2016; Young and Ghobrial, 2015).

Il existe un faisceau de preuves qui plaident en faveur d'une pathogénicité des aAc anti-SRP et anti-HMGCR au cours des MNAI. Cependant il manque à ces arguments la preuve d'une pathogénicité *in vivo*.

II- OBJECTIFS

Les MNAI sont aujourd'hui considérées comme un sous-type à part entière parmi les MAI, avec la particularité d'être peu inflammatoires et caractérisées par la présence de deux aAc : les anti-HMGCR ou les anti-SRP. La présence d'aAc spécifiques au cours d'une maladie auto-immune pose la question de leur pathogénicité et du mécanisme par lequel leur activité délétère s'opère. Des preuves directe et circonstancielle de leur pathogénicité ont été démontrées : leur pathogénicité *in vitro* envers des cellules musculaires en culture et la corrélation des aAc à l'activité de la maladie.

Dans ce contexte, les objectifs de mes travaux de thèse ont été de :

- Démontrer le rôle pathogène des aAc anti-SRP et anti-HMGCR *in vivo* chez la souris
- Etudier l'implication du système du complément dans la pathogénicité des aAc anti-HMGCR et anti-SRP
- Etudier la localisation cellulaire des cibles HMGCR et SRP *in vitro* et *in vivo*

III- RESULTATS

A) Pathogénicité *in vivo* des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR

Article N°2

***In vivo* pathogenicity of auto-antibodies in immune-mediated necrotising myopathies**

To be submitted

Cécile Bergua,¹ Hélène Chiavelli,¹ Yves Allenbach,² Louiza Arouche-Delaperche,² Christophe Arnoult,³ Gwladys Bourdenet,¹ Laetitia Jean,¹ Rachid Zoubaïri,¹ Nicolas Guérout,⁴ Michael Malher,⁵ Olivier Benveniste,² Laurent Drouot,^{1±} and Olivier Boyer ^{1±*}

±equal contribution

Dans cet article, nous établissons pour la première fois le rôle pathogène *in vivo* des aAc anti-SRP et anti-HMGCR. Pour cela, plusieurs transferts passifs d'IgG humaines positives pour les aAc anti-SRP et anti-HMGCR ont été réalisés chez la souris. Leur force musculaire a été évaluée par Grip Test ainsi que par une méthode adaptée au laboratoire de mesure de la force de contraction du *gastrocnémius* sous électrostimulation. L'atteinte musculaire a également été évaluée par examen histologique. Ces résultats montrent une diminution de la force musculaire, ainsi qu'une atteinte histologique nécrotique modérée lorsqu'elle est présente. Les effets observés avec les IgG anti-SRP⁺ sont plus importants qu'avec les IgG anti-HMGCR⁺. L'injection du plasma déplété en IgG montre, qu'au sein du plasma, ce sont bien les IgG et non d'autres substances (cytokines, médicaments) qui agissent.

L'effet pathogène des aAc est parfois limité dans le temps (J7) en raison du développement attendu d'une réponse xénogénique envers les IgG injectées. L'injection prolongée d'IgG humaines, sans réponse xénogénique, a été possible par le transfert passif de souris Rag2^{-/-}. Et donc, comme anticipé, la force musculaire chez ces souris est diminuée de façon prolongée.

Le transfert passif d'IgG aux souris déficientes en fragment C3 du complément induit un déficit musculaire moindre. La supplémentation des souris en complément humain, dans le but d'exacerber la pathologie, a également permis de démontrer la forte implication du complément dans la pathogénicité des aAc anti-HMGCR. Les effets observés avec les aAc

anti-SRP montrent l'implication du système du complément mais suggèrent, en plus, des mécanismes non-dépendants du complément.

***In vivo* pathogenicity of auto-antibodies
in immune-mediated necrotising myopathies**

Cécile Bergua,¹ Hélène Chiavelli,¹ Yves Allenbach,² Louiza Arouche-Delaperche,²
Christophe Arnoult,³ Gwladys Bourdenet,¹ Laetitia Jean,¹ Rachid Zoubairi,¹ Nicolas
Guérout,⁴ Michael Malher,⁵ Olivier Benveniste,² Laurent Drouot,¹≠ and Olivier Boyer¹≠*

≠equal contribution

¹Normandie Université, UNIROUEN, IRIB, Inserm, U1234, Rouen University Hospital,
Department of Immunology, Rouen, France;

²Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, Inserm UMRS_974, Center of Research in
Myology, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Pitié-Salpêtrière University Hospital,
Department of Internal Medicine and Clinical Immunology, Paris, France;

³Normandie Université, UNIROUEN, IRIB, CNRS, UMR6270, Rouen, France;

⁴Normandie Université, UNIROUEN, IRIB, UPRES EA 3830, Rouen, France;

⁵Inova Diagnostics, Department of Research, San Diego, CA, USA.

*Correspondence to:

Prof. Olivier Boyer, MD, PhD

Inserm U1234, Faculty of Medicine and Pharmacy,

22 bd Gambetta, F-76000 Rouen, France.

olivier.boyer@chu-rouen.fr Tel. +33 2 35 14 85 35 and fax +33 2 32 88 81 86

Acknowledgements:

The authors would like to thank Roger Albesa, Damien Amelin, Magalie Bénard, Ebba Brakenhielm, Jean-Claude Do Rego, Anaïs Dumesnil, Arnaud Ferry, Fabienne Jouen, Yann Lacoume, Jérémie Martinet, Eckart Mummert, Antoine Obry, Christophe Pitot, Reynald Publier, Gaëtan Riou, Jean-Philippe Simon, Werner Stenzel, Serena Viappiani for their help and/or helpful discussion during this study. We acknowledge the Association Française contre les Myopathies, CSL Behring, Normandy Region, the European Union and Normandie Regional Council for their financial support. Europe gets involved in Normandie with European Regional Development Fund (ERDF). We are grateful to Nikki Sabourin-Gibbs, Rouen University Hospital, for her help in editing the manuscript.

Abstract

In autoimmunity, autoantibodies (aAb) may be pathogenic or simple biomarkers of disease. Recently, a form of idiopathic inflammatory myopathy associated with anti-Signal Recognition Particle (SRP) or anti-3-Hydroxy-3-MethylGlutaryl-CoA Reductase (HMGCR) aAb, myofibre necrosis and C5b-9 deposits has been individualised and referred to as immune-mediated necrotising myopathy (IMNM). The level of aAb correlates with IMNM activity and disease responds to immunosuppression. To demonstrate the autoimmune character of this entity, we evaluated the pathogenicity of anti-SRP and anti-HMGCR aAb *in vivo* by developing the first mouse model of IMNM. Passive transfer of patients' IgG to C57BL/6 or Rag2^{-/-} mice provoked muscle deficiency. Pathogenicity was increased by supplementation with human complement and reduced in C3^{-/-} mice. Therefore, anti-SRP and anti-HMGCR aAb were pathogenic toward muscle *in vivo* through a complement-mediated mechanism, establishing the autoimmune character of IMNM. These data support the use of plasma exchanges and argue for evaluating complement-targeting therapies in IMNM.

Immune-mediated necrotising myopathies (IMNM), formerly also referred to as necrotising autoimmune myopathies (NAM), are particular forms of idiopathic inflammatory myopathies (IIM) which encompass a group of severe acquired muscle disorders including dermatomyositis, inclusion body myositis, polymyositis and overlap myositis. IMNM have been clearly distinguished from other forms of IIM based on histological patterns, *i.e.* presence of myofibre necrosis as the predominant abnormal feature, complement deposits on myofibres, and paucity or absence of inflammatory cells¹⁻⁵. This paucity of inflammatory infiltrates and presence of complement deposits on myofibres is suggestive of an autoantibody (aAb)-mediated pathophysiology rather than T cell-dependent cytotoxicity presumably involved in others forms of IIM.

IMNM are typically associated with the presence of aAb directed against two distinct antigens, namely Signal Recognition Particle (SRP)⁶ or 3-Hydroxy-3-MethylGlutaryl-CoA Reductase (HMGCR)³. These two aAb are present in two thirds of IMNM patients^{5,7} while approximately one third remains seronegative as of today. IMNM are associated with a spectrum of clinical presentations. Anti-SRP⁺ IMNM ranges from severe and rapidly progressive disease^{8,9} to slowly progressive forms that may mimic limb girdle muscular dystrophy and delay treatment onset^{10,11}. Anti-HMGCR⁺ IMNM is also severe, although less than its anti-SRP⁺ counterpart, and may occur after statin intake in a variable proportion of patients^{2,12,13}. Extra-muscular manifestations are typically infrequent and mild when present^{2,14,15}.

SRP is a ribonucleoprotein complex involved in guiding nascent polypeptides into the endoplasmic reticulum. Whereas anti-SRP aAb from patients may recognize each of the different SRP components^{16,17}, the signal peptide-binding 54 kDa subunit (SRP54) is the major target since reactivity to SRP54 is almost always present in anti-SRP positive sera and therefore used in diagnostic immunoassays^{6,18-20}. Importantly in this context, SRP54 is highly

conserved between species, with 100% homology between human and mouse. HMGCR is an enzyme located at the membrane of the endoplasmic reticulum. It is responsible for the production of mevalonate, a rate-limiting step of cholesterol biosynthesis. HMGCR can be pharmacologically inhibited by statins which are used to reduce cholesterol levels and the risk of heart disease. In 2010, anti-HMGCR aAb were discovered in statin-exposed IMNM patients using immunoprecipitation³, but were also found in a large proportion of non-exposed patients². The reactivity of anti-HMGCR aAb is directed against the C-terminal catalytic domain²¹, a part of the molecule that shares more than 98% homology with mouse HMGCR.

Since the expression of SRP and HMGCR is ubiquitous rather than muscle specific, the pathogenic role of aAb directed against these molecules in IMNM has remained elusive and the autoimmune character of IMNM has not been formally established as of today. However, anti-SRP aAb purified from patients have been shown to inhibit the *in vitro* translocation of secretory proteins into the endoplasmic reticulum²⁰. In a longitudinal follow-up study, we showed that the levels of anti-SRP54 aAb in patients are closely correlated to disease activity²². Along those lines, plasma exchanges and B cell targeting therapies can be efficient in treatment-resistant IMNM^{23–26}. Regarding anti-HMGCR⁺ IMNM, cross-sectional studies have suggested that aAb levels are associated with disease severity^{2,12,13}. These observations suggest that these aAb may not be only useful biomarkers of disease but may also be direct pathogenic players in IMNM.

Two *in vitro* studies recently supported the hypothesis of a pathogenic role of these aAb. Anti-SRP⁺ serum plus complement was shown to reduce cell survival of myoblast cultures²⁷. Addition of anti-SRP and anti-HMGCR aAb impaired myoblast fusion and induced atrophy of myotubes²⁸.

To obtain more insight into the pathogenic mechanisms that cause IMNM and formally establish their autoimmune character, we evaluated the pathogenicity of anti-SRP and anti-HMGCR aAb in mice *in vivo*.

Methods

Human samples. All patient samples were collected after written informed consent was obtained. The study was approved by the Ile-de-France III Ethics Committee. Plasmas (obtained after a first plasma exchange) positive for anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies (anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ aAb) were obtained from patients who fulfilled the consensus criteria for IMNM with the presence of anti-SRP or anti-HMGCR aAb²⁹. The aAb were titrated (Suppl. Fig. 1) by a quantitative addressable laser bead immuno-assay (ALBIA) that we described previously^{22,30}. Indication for plasma exchange was based on the severity of clinical presentation. Control plasmas were anti-SRP and anti-HMGCR aAb negative samples from healthy blood donors from the Etablissement Français du Sang (EFS).

Mice. 8-weeks-old C57BL/6 female mice were purchased from Charles River, France. Rag2 deficient (Rag2^{-/-}) and complement component 3 deficient (C3^{-/-}) C57BL/6 mice were purchased from Jackson Laboratories and bred in our facility. The protocol for animal experimentation was approved by an institutional ethics committee (Comité régional d'Ethique en Expérimentation Animale, Mont Saint Aignan, France) under the reference N/33-11-12/56/11-15, and 201508071625487 for complement-related experiments.

IgG purification. Total IgG were purified from anti-SRP⁺, anti-HMGCR⁺ or control plasma by automated protein-G affinity purification on an ÄKTA Start chromatograph (GE Healthcare Life Science). Purified IgG were dialyzed against phosphate buffer saline (PBS).

controlled by SDS-PAGE followed by coomassie blue staining (Invitrogen™ Novex™ NuPAGE™) and quantified by BCA assay (Thermo Fisher). The flow-through of IgG purification was kept for use as IgG depleted control. Levels of anti-SRP⁺ or HMGCR⁺ aAb were controlled by ALBIA. All samples were stored at -80°C until use.

Western blot. Normal human muscle tissue was snap frozen in liquid nitrogen, ground in a mortar and homogenized in ice-cold RIPA buffer supplemented with a protease inhibitor cocktail. The homogenate was then centrifuged at 16,000g for 30 min at 4°C. The lysate was solubilized in Nupage LDS sample buffer and boiled prior to electrophoresis. Western blot was performed on recombinant SRP54, human muscle protein lysate or His-tagged recombinant murine HMGCR by transfer of proteins separated by non-reducing SDS-PAGE to a nitrocellulose membrane. The membrane was incubated with goat anti-SRP (SantaCruz), immunoaffinity purified human anti-SRP aAb, mouse anti-His (Sigma Aldrich) or purified human anti-HMGCR⁺ IgG. Revelation using rabbit Alexa Fluor® 680 labelled anti-goat Ab (Invitrogen), goat Alexa Fluor® 790 labelled anti-human Ab (Jackson) or goat Alexa Fluor® 700 anti-mouse (Life technologies), as appropriate, on an Odyssey apparatus (LI-COR).

Passive transfer of human IgG into mice. 8 to 12 week-old C57BL/6 wild type, Rag2^{-/-} or C3^{-/-} mice were divided into groups of 5 to 10 animals. They received daily intraperitoneal injections of anti-SRP⁺ plasma, IgG purified from anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ or control plasma (2 mg), or IgG-depleted flow-through from anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ plasma for 8 to 21 days. To reduce anti-human xenogeneic immune responses, immunocompetent mice received a single dose of 300 mg/kg of cyclophosphamide (Sigma) at day-1, as described³¹.

Passive transfer of a human monoclonal antibody into mice. 8 week-old C57BL/6 mice were immunosuppressed as described above and injected with a human monoclonal anti-

HMGCR Ab (IgG1) obtained from a phage display library (Inova Diagnostics)³². Anti-CD20 (Rituximab, Roche) was used as control since it does not have a target in mice. Two intravenous injections of 100 and 50 μ g were realized at day 0 and 3.

Human complement supplementation. Pooled complement human serum (Innovative Research) was depleted in IgG as described above, experiments being performed at 4°C to avoid complement degradation, and stored at -80°C until use. After IgG depletion, conservation of complement activity was assessed by CH50. Mice were supplemented by daily intraperitoneal injections of 200 μ L of IgG-depleted pooled complement human serum.

Mouse muscle strength evaluation. The forelimb grip strength was measured by grip test (BioSeb). Briefly, mice were held by the tail so that their front paws grasped a grid connected to an isometric force transducer. The maximal force before losing grip was computed as the mean of five measurements per mouse. Muscle strength was also evaluated by measuring *in situ* muscle contraction upon electrostimulation. For this, mice were anesthetized using isoflurane. Then, the distal tendon of the gastrocnemius was detached and tied to an isometric transducer (PowerLab Station, AD Instruments). The sciatic nerve was stimulated distally and the response to stimulation (2Volt, 70Hz, 300ms) was recorded and maximal force was determined. Measurement and analysis were performed on LabChart7 software (AD Instruments), as adapted from³³.

Immunohistological analysis of mouse muscle. After passive transfer, muscles were snap frozen into isopentane cooled in liquid nitrogen and cut at 6 μ m. Cryosections were stained using hematoxylin and eosin. For immunohistochemistry, frozen sections were incubated with rat anti-F4/80 (eBioscience), followed by biotinylated goat anti-rat IgG and avidin and biotin-

complexed horseradish peroxidase plus AEC peroxidase substrate (Vector Laboratories). Sections were then counterstained with hematoxylin. For immunofluorescence analysis, frozen sections were incubated with rabbit anti-C5b-9 (Abcam) Ab, followed by anti-rabbit IgG Af680 (Life Technologies) and Hoescht counterstaining. Controls for staining specificity (omission of the primary antibody) were always negative.

For immunofluorescence analysis of anti-SRP reactivity, frozen sections were incubated with monoclonal mouse anti-human SRP Ab (Santa-Cruz) or anti-SRP⁺ human plasma or purified human IgG or purified human anti-SRP Ab $\pm$ rabbit anti-mouse fibronectin Ab (DAKO). Then, revelation was performed using a FITC-labelled anti-human IgG $\pm$ a Cy3-labeled anti-rabbit IgG secondary Ab, with DAPI counterstaining. Controls for staining specificity (omission of the primary Ab and primary incubation with healthy control plasma or purified IgG) were always negative. For inhibition experiments, purified human anti-SRP aAb were pre-incubated with the free recombinant SRP54 protein for 3 h before immunofluorescence analyses.

Active immunization. 8-week-old C57BL6 mice were immunised with recombinant human HMGCR (Inova Diagnostics) or ovalbumin as a control, in the presence of ODN CpG type C (Invivogen) as adjuvant. The production of anti-HMGCR IgG after immunization was assessed by ALBIA from mice serum, as described above. Grip test, *in situ* muscle strength measurement and histological analyses were performed as described for passively transferred mice.

Statistical analysis. Data were compared by the Mann-Whitney or Wilcoxon test, as appropriate, using Prism 5 software (GraphPad). A p-value <0.05 was considered statistically significant.

Results

Reactivity of autoantibodies against their targets

The presence of immunoreactive SRP in mouse muscle was first confirmed by immunostaining with a commercial anti-SRP antibody (Ab, Fig. 1a). Plasma from anti-SRP⁺ patients recognized their target in mouse muscle (Fig. 1c). Both commercial anti-SRP and patient plasma reactivities yielded a peripheral reinforcement, resulting in a sarcolemmal or sub-sarcolemmal pattern. This aspect was similar for the eight different anti-SRP⁺ sera or plasmas tested (data not shown), and with purified anti-SRP IgG (Fig. 1d). The specificity of immune-affinity purified anti-SRP aAb was confirmed by a competition experiment in which anti-SRP aAb were pre-incubated with recombinant SRP54, yielding a total disappearance of signal (Fig. 1e&f).

On Western blots, both goat anti-SRP Ab (Fig. 1g, line 1) and immuno-affinity purified anti-SRP aAb recognized the recombinant SRP54 protein (Fig. 1g, line 2). For HMGCR, both anti-His Ab (Fig. 1h, line 3) and the four tested anti-HMGCR⁺ IgG from patients (Fig. 1h, line 4), recognized the His-tagged recombinant murine HMGCR.

Together, these results show that anti-SRP and anti-HMGCR from patients recognize their antigenic targets in mouse.

Pathogenicity of anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies *in vivo*

We investigated the effects of anti-SRP and anti-HMGCR aAb on mouse muscle after their passive transfer *in vivo*. For this, C57BL/6 mice were injected daily with plasma or purified IgG from anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ patients (Fig. 2a). To limit xenoimmunisation against human proteins, animals were transiently immunosuppressed with a single dose of cyclophosphamide. Injection of plasma from two patients suffering from anti-SRP⁺ IMNM provoked a reduction in grip strength as shown by Δ grip strength of -34 g and -32 g for plasmas of patients P1 or P2, respectively (Fig. 2b). Differences were statistically significant

when compared to control plasma. Similar results were obtained when using NOD mice as recipients of anti-SRP Ab, indicating that the pathogenicity is not dependent on the genetic background (Suppl. Fig. 2).

To confirm that the effect of anti-SRP⁺ plasma was due to the presence of IgG, the same experiment was carried out with purified IgG and IgG-depleted flow-through, from anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ plasmas. ALBIA evidenced that human anti-SRP and anti-HMGCR aAb circulated at high levels in the serum of injected mice at day 8 after injection (Suppl. Fig. 3a&b). As compared to IgG controls, injection of IgG from both anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ plasma provoked a significant decrease in muscle strength. The IgG-depleted fraction of the same plasma had no significant effect, indicating that pathogenicity is indeed mediated by IgG (Fig. 2c-e). To confirm these results, we used another muscle assessment technique which consisted in measuring *gastrocnemius* strength upon electrostimulation of the sciatic nerve (referred to as muscle strength). Using this method, the muscle strength of mice injected with anti-HMGCR and anti-SRP IgG also decreased as compared to mice injected with IgG-depleted plasma or control IgG (Fig. 2d&f).

Hematoxylin and eosin staining revealed the presence of scarce necrotic myofibres 8 days after administration of IgG purified from anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ plasma (Fig. 2g). As expected, no necrosis was observed after injection of IgG purified from a healthy donor (Fig. 2g, upper left panel) or IgG-depleted fraction of the plasma samples (data not shown). Immuno-histochemical staining of F4/80, a specific marker for macrophages, revealed myophagocytosis of necrotic muscle fibres (Fig. 2g, lower right panel).

When the duration of experimentation was extended, the muscle strength of mice injected with purified IgG from anti-SRP⁺ plasma returned to normal values at around day 14 (data not shown). This lack of a long-lasting effect was likely due to the xenogeneic response elicited against human IgG that unavoidably appeared despite cyclophosphamide. Indeed, injection of

plasma or purified IgG provoked a production of anti-human IgG Ab but not when mice received an IgG-depleted fraction (Suppl. Fig. 3c). Cyclophosphamide had an immunosuppressive effect since anti-human IgG levels were much higher in mice not receiving this regimen. To completely avoid xenoinmunisation, we also performed passive transfer experiments using genetically-modified (Rag2^{-/-}) immunodeficient mice. After injection of purified IgG from anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ IgG to C57BL/6 Rag2^{-/-} mice (Fig. 3a), the results obtained at day 8 were similar to those observed in normal C57BL/6 recipients. As expected, muscle deficiency was maintained beyond day 7 in these conditions (Fig. 3b&c). Here again, muscle deficiency was more pronounced in mice receiving anti-SRP⁺ IgG than anti-HMGCR⁺ IgG (anti-SRP⁺ IgG vs anti-HMGCR⁺ IgG mean Δ grip strength at day 21: -45 g vs -20 g). Myofibre necrosis and C5-b9 deposits were present (Fig. 3d&e).

Interestingly, targeting of a single HMGCR epitope with a human monoclonal Ab derived from a phage display library was not sufficient to induce a muscle deficiency (Fig. 4), suggesting that polyclonal aAb may target different antigenic determinants in HMGCR.

In addition to passive transfer experiments, active immunization was performed. Immunization with recombinant human HMGCR (rhHMGCR) induced the production of anti-HMGCR in the serum of mice and subsequent muscle strength deficiency (Fig. 5a&c), as compared to immunisation with ovalbumine (OVA, Fig. 5b&c).

These results demonstrate that anti-SRP and anti-HMGCR aAb from IMNM patients do provoke muscle deficiency, establishing the pathogenicity of anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ Ab *in vivo*.

Involvement of complement in pathogenicity

To assess the involvement of the complement system in the pathogenicity of anti-SRP and anti-HMGCR aAb, mice deficient in C3 complement fragment (C3^{-/-}) were subjected to a

passive transfer, as above. When compared to wild type ($C3^{wt/wt}$), $C3^{-/-}$ mice receiving anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ IgG had a less pronounced deficiency in muscle strength, indicating that pathogenicity is lower in absence of complement (Fig. 6a&b).

Yet, mice are known to have rather low complement activity (CH50) as compared to humans^{34,35}. Moreover, in other animal models of autoimmune pathologies, the pathogenicity of IgG on the target tissue requires the addition of human complement as human IgG does not efficiently activate mice complement^{36,37}. In a similar way in our model, human complement supplementation of mice receiving anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ IgG induced a decrease of muscle strength as compared to IgG alone (Fig. 6c).

Discussion

This is the first report that anti-SRP and anti-HMGCR aAb from patients demonstrate pathogenic properties *in vivo* in mice. IMNM have recently been recognized as an individual subgroup of idiopathic inflammatory myopathies¹ in which aAb directed against SRP and HMGCR are found in 65-72% of patients^{5,38}. Although anti-SRP aAb were described 30 years ago^{6,19}, anti-HMGCR aAb were not identified until 2010³. Until now, their role in IMNM pathogenesis as cause or epiphenomenon of disease has remained unknown. Indeed, they may represent mere biomarkers generated by a breakage of tolerance after autoantigens are released by myofibre necrosis. Alternatively, they could be key pathogenic players that cause disease. Solving this issue has important therapeutic consequences.

We show herein that anti-SRP⁺ plasma is able to induce muscle deficiency in mice. To prevent possible non-specific effects of components other than anti-SRP aAb that might be present in the plasma of patients, we purified IgG before injection. Using daily IgG injections, we show that the deficiency is indeed caused by the IgG fraction of plasma. In addition, we also show that anti-HMGCR⁺ plasma is able to induce muscle deficiency by IgG fraction. In both cases, IgG-depleted plasma did not affect muscle strength. Muscle deficiency was

evidenced by 2 independent methods of evaluation, *i.e.* grip test and muscle strength upon nerve electrostimulation. Using these methods, loss of muscle strength appeared more severe in anti-SRP⁺ than in anti-HMGCR⁺ IgG injected mice. This is in agreement with observations in humans, with a higher severity in anti-SRP⁺ patients³⁹. Despite being named for its necrotizing character, the extent of myofibre necrosis in IMNM remains in the percentage range for anti-SRP⁺ patients, and is not different between anti-Jo-1⁺ and anti-HMGCR⁺ patients for instance (Allenbach *et al.*, *in press*). Consistently, myofibre necrosis was modest after transfer of anti-SRP⁺ aAb and even more so after anti-HMGCR⁺ aAb (Fig. 2).

Interestingly, no cellular inflammatory infiltrate was evidenced, in accordance with observations in IMNM patients in whom muscle biopsies show little if any inflammation^{15,40}. Our observation that experimental disease develops similarly in immunocompetent and immunodeficient Rag2^{-/-} mice confirms the dispensable role of the adaptive immune system in driving the pathogenicity of aAb once produced. Further, because the absence of T and B cells prevents the xenogeneic response against human IgG, a more prolonged muscle deficiency was observed in mice receiving anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ IgG (Fig.3). In contrast, clinical signs were resolved by day 14 in immunocompetent hosts (data not shown) with occurrence of xenogeneic response (Suppl. Fig. 2c). This is the reason we performed muscle evaluation at day 7.

Monoclonal antibodies derived from patients with pemphigus vulgaris or from collagen-induced arthritic mice were shown to induce skin blistering or arthritis, respectively. However, only some autoantigenic specificities have a pathogenic activity^{41,42}. Here, we failed to induce disease using a human anti-HMGCR mAb obtained after phage display screening (and not from a patient's library of anti-HMGCR aAb). Thus, it is possible that the epitope targeted by this mAb is not involved in the pathogenicity of anti-HMGCR aAb. Other studies in pemphigus vulgaris showed that mAb can have synergistic effects when administered concomitantly⁴³, and that a non-pathogenic mAb may even act synergistically with a pathogenic one⁴⁴. Therefore, another possibility is that the targeting of a single epitope is not sufficient to induce a pathogenic effect on muscle that may require binding of different aAb to multiple epitopes on their molecular target.

In parallel to passive transfer experiments, immunization with rhHMGCR elicited the production of specific Ab, as attested by ALBIA (Fig. 5a). This protocol induced a loss in muscle strength (Fig. 5b), confirming the pathogenic nature of the HMGCR-specific immune response. Interestingly, although lower than after passive transfer, a single course of immunization with a mild adjuvant readily provoked a measurable disease. In comparison, breakage of tolerance against other muscle proteins such as protein C or myosin requires dramatically heavier protocols with complete Freund adjuvant and several boosts before inducing experimental autoimmune myositis^{45,46}.

SRP is a ribonucleoprotein complex composed of six SRP family proteins associated with a small RNA molecule. Its physiological role is to bind nascent proteins and guide them into the endoplasmic reticulum during protein synthesis. HMGCR is an enzyme located at the membrane of the endoplasmic reticulum. It is composed of 8 transmembrane domains and a C-terminal catalytic domain pointing to the cytosol. The protein is responsible for the production of mevalonate, a rate-limiting step of cholesterol biosynthesis. HMGCR can be pharmacologically inhibited by statins which are used to reduce cholesterol levels and the risk of heart disease.

Human anti-SRP aAb are able to inhibit the activity of their target enzyme²⁰. Thus, the pathogenicity of anti-SRP aAb could also involve its ability to inhibit SRP activity *in vivo*. Although the capacity of patients' anti-HMGCR aAb to inhibit the production of mevalonate has not been demonstrated yet, it cannot be formally excluded that such a mechanism might also occur in anti-HMGCR associated IMNM. In this line of thinking, the inducible knockout of the HMGCR gene in muscle led to a necrotizing myopathy in mice⁴⁷. This hypothesis of a target blockade would require that anti-SRP and anti-HMGCR aAb penetrate myofibres. Although intracellular penetration of aAb is still a matter for debate, there has been evidence that anti-ribonucleoprotein Ab from lupus patients do enter into cells⁴⁸, and several studies have further confirmed this phenomenon⁴⁹⁻⁵¹. A patient's derived anti-DNA aAb (3E10) is also capable of entering cancer cells through the ENT2 transporter⁵² and of inhibiting DNA break repair, providing increased sensitivity to DNA-damaging therapy⁵³.

Besides blocking their molecular target, IMNM-associated aAb presumably recognize their cellular target on myofibres and trigger pathogenic effect mechanisms. In this line of thinking, we recently reported the accessibility of SRP and HMGCR at the surface of muscle cells *in vitro* (Allenbach 2017, *in press*). Downstream pathogenic mechanisms may include effects on muscle regeneration or induction of atrophy by a MURF1-, atrogin-dependent pathway, as shown *in vitro* after addition of IMNM-associated aAb without complement²⁸. Yet, the major mechanism is presumably the activation of complement.

Indeed, one of the most distinguishing histological features of IMNM is represented by complement deposits on non-necrotic myofibres^{2,4,5}. We previously observed that more than 80% of anti-SRP positive patients have IgG1 subclass anti-SRP aAb, an isotype capable of activating complement, whereas non complement-activating IgG4 were significantly less frequent (Benveniste et al., 2011). Also, 100% of anti-HMGCR⁺ patients have IgG1³⁰. For anti-SRP aAb, one study showed a pathogenic effect on myoblasts with involvement of complement²⁷. These observations, as well as the pathogenic character of anti-SRP and anti-HMGCR⁺ IgG in Rag^{-/-} mice argue toward the existence of a complement-mediated pathogenicity of aAb in IMNM. To investigate this issue, we passively transferred C3-deficient mice and were able to show that the absence of complement activation cascade abolished the pathogenic effect of anti-SRP and anti-HMGCR aAb.

It is known that mice have lower complement activity than humans³⁴. We hypothesized that supplementing mice with human complement could increase the pathogenic potency of anti-SRP and anti-HMGHCR aAb, as already shown for other aAb in neuromyelitis optica or Miller Fisher syndrome^{36,37}. Indeed, muscle deficiency was more pronounced when anti-SRP⁺ or anti-HMGCR⁺ IgG were given in conjunction with human complement (Fig. 6d).

Together, our findings demonstrate the pathogenic role of anti-SRP and anti-HMGCR aAb *in vivo* by a mechanism partly involving complement. These results support the use of plasma exchange and B cell targeting therapies in anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ IMNM, and argue for the evaluation of complement-targeting therapies.

References

1. Hoogendijk, J. E. *et al.* 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul. Disord. NMD* **14**, 337–345 (2004).
2. Allenbach, Y. *et al.* Anti-HMGCR autoantibodies in European patients with autoimmune necrotizing myopathies: inconstant exposure to statin. *Medicine (Baltimore)* **93**, 150–157 (2014).
3. Christopher-Stine, L. *et al.* A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum.* **62**, 2757–2766 (2010).
4. Chung, T., Christopher-Stine, L., Paik, J. J., Corse, A. & Mammen, A. L. The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve* (2015). doi:10.1002/mus.24642
5. Watanabe, Y. *et al.* Clinical features and prognosis in anti-SRP and anti-HMGCR necrotising myopathy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **87**, 1038–1044 (2016).
6. Targoff, I. N., Johnson, A. E. & Miller, F. W. Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum.* **33**, 1361–1370 (1990).
7. Pinal-Fernandez, I. *et al.* Longitudinal Course of Disease in a Large Cohort of Myositis Patients With Autoantibodies Recognizing the Signal Recognition Particle: Anti-SRP Autoantibodies in Myositis Patients. *Arthritis Care Res.* **69**, 263–270 (2017).
8. Kao, A. H., Lacomis, D., Lucas, M., Fertig, N. & Oddis, C. V. Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* **50**, 209–215 (2004).
9. Miller, T., Al-Lozi, M. T., Lopate, G. & Pestronk, A. Myopathy with antibodies to the signal recognition particle: clinical and pathological features. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **73**, 420–428 (2002).
10. Benveniste, O. & Romero, N. B. Myositis or dystrophy? Traps and pitfalls. *Presse Médicale* **40**, e249–e255 (2011).
11. Suzuki, S. *et al.* Clinical utility of anti-signal recognition particle antibody in the differential diagnosis of myopathies. *Rheumatology* **47**, 1539–1542 (2008).
12. Ge, Y., Lu, X., Peng, Q., Shu, X. & Wang, G. Clinical Characteristics of Anti-3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Antibodies in Chinese Patients with Idiopathic Inflammatory Myopathies. *PLOS ONE* **10**, e0141616 (2015).
13. Werner, J. L. *et al.* Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* **64**, 4087–4093 (2012).
14. Picard, C. *et al.* Heterogeneous clinical spectrum of anti-SRP myositis and importance of the methods of detection of anti-SRP autoantibodies: a multicentric study. *Immunol. Res.* **64**, 677–686 (2016).

15. Suzuki, S. *et al.* Inflammatory myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: case series of 100 patients. *Orphanet J. Rare Dis.* **10**, (2015).
16. Janda, C. Y. *et al.* Recognition of a signal peptide by the signal recognition particle. *Nature* **465**, 507–510 (2010).
17. Satoh, T. *et al.* Novel autoantibodies against 7SL RNA in patients with polymyositis/dermatomyositis. *J. Rheumatol.* **32**, 1727–1733 (2005).
18. Okada, N., Mimori, T., Mukai, R., Kashiwagi, H. & Hardin, J. A. Characterization of human autoantibodies that selectively precipitate the 7SL RNA component of the signal recognition particle. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **138**, 3219–3223 (1987).
19. Reeves, W. H., Nigam, S. K. & Blobel, G. Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **83**, 9507–9511 (1986).
20. Römisch, K., Miller, F. W., Dobberstein, B. & High, S. Human autoantibodies against the 54 kDa protein of the signal recognition particle block function at multiple stages. *Arthritis Res. Ther.* **8**, R39 (2006).
21. Mammen, A. L. *et al.* Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* **63**, 713–721 (2011).
22. Benveniste, O. *et al.* Correlation of anti-signal recognition particle autoantibody levels with creatine kinase activity in patients with necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum.* **63**, 1961–1971 (2011).
23. Arlet, J.-B. *et al.* Marked efficacy of a therapeutic strategy associating prednisone and plasma exchange followed by rituximab in two patients with refractory myopathy associated with antibodies to the signal recognition particle (SRP). *Neuromuscul. Disord. NMD* **16**, 334–336 (2006).
24. Landon-Cardinal, O. Anti-HMGCR Necrotizing Autoimmune Myopathy Leading to Identification of Cancer Relapse. *Clin. Med. Rev. Case Rep.* **4**, (2017).
25. O’Grady, J., Harty, L., Mayer, N., Critcher, V. & Ryan, J. Immune-Mediated Necrotizing Myopathy, Associated With Antibodies to Signal Recognition Particle, Together With Lupus Nephritis: Case Presentation and Management. *J. Clin. Med. Res.* **7**, 490–494 (2015).
26. Valiyil, R., Casciola-Rosen, L., Hong, G., Mammen, A. & Christopher-Stine, L. Rituximab therapy for myopathy associated with anti-signal recognition particle antibodies: a case series. *Arthritis Care Res.* **62**, 1328–1334 (2010).
27. Rojana-udomsart, A. *et al.* Complement-mediated muscle cell lysis: a possible mechanism of myonecrosis in anti-SRP associated necrotizing myopathy (ASANM). *J. Neuroimmunol.* **264**, 65–70 (2013).
28. Arouche-Delaperche, L. *et al.* Pathogenic role of anti-signal recognition protein and anti-3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase antibodies in necrotizing myopathies: Myofiber atrophy and impairment of muscle regeneration in necrotizing autoimmune myopathies: Anti-SRP and Anti-HMGCR. *Ann. Neurol.* **81**, 538–548 (2017).

29. Hoogendijk, J. E. *et al.* 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul. Disord. NMD* **14**, 337–345 (2004).
30. Drouot, L. *et al.* Exploring necrotizing autoimmune myopathies with a novel immunoassay for anti-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase autoantibodies. *Arthritis Res. Ther.* **16**, R39 (2014).
31. Cole, R. N., Reddel, S. W., Gervasio, O. L. & Phillips, W. D. Anti-MuSK patient antibodies disrupt the mouse neuromuscular junction. *Ann. Neurol.* **63**, 782–789 (2008).
32. Koch, H., Gräfe, N., Schiess, R. & Plückthun, A. Direct Selection of Antibodies from Complex Libraries with the Protein Fragment Complementation Assay. *J. Mol. Biol.* **357**, 427–441 (2006).
33. Vignaud, A., Cebrian, J., Martelly, I., Caruelle, J.-P. & Ferry, A. Effect of anti-inflammatory and antioxidant drugs on the long-term repair of severely injured mouse skeletal muscle: Muscle injury and anti-inflammatory drugs. *Exp. Physiol.* **90**, 487–495 (2005).
34. Ong, G. L. & Mattes, M. J. Mouse strains with typical mammalian levels of complement activity. *J. Immunol. Methods* **125**, 147–158 (1989).
35. Kotimaa, J. *et al.* Sex matters: Systemic complement activity of female C57BL/6J and BALB/c mice is limited by serum terminal pathway components. *Mol. Immunol.* **76**, 13–21 (2016).
36. Saadoun, S. *et al.* Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* **133**, 349–361 (2010).
37. Halstead, S. K. *et al.* Eculizumab prevents anti-ganglioside antibody-mediated neuropathy in a murine model. *Brain* **131**, 1197–1208 (2008).
38. Pinal-Fernandez, I. & Mammen, A. L. Spectrum of immune-mediated necrotizing myopathies and their treatments. *Curr. Opin. Rheumatol.* **28**, 619–624 (2016).
39. Pinal-Fernandez, I. *et al.* Thigh muscle MRI in immune-mediated necrotising myopathy: extensive oedema, early muscle damage and role of anti-SRP autoantibodies as a marker of severity. *Ann. Rheum. Dis.* **76**, 681–687 (2017).
40. Alshehri, A., Choksi, R., Bucelli, R. & Pestronk, A. Myopathy with anti-HMGCR antibodies: Perimysium and myofiber pathology. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation* **2**, e124 (2015).
41. Payne, A. S. *et al.* Genetic and functional characterization of human pemphigus vulgaris monoclonal autoantibodies isolated by phage display. *J. Clin. Invest.* **115**, 888–899 (2005).
42. Terato, K. *et al.* Induction of arthritis with monoclonal antibodies to collagen. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **148**, 2103–2108 (1992).
43. Kawasaki, H. *et al.* Synergistic pathogenic effects of combined mouse monoclonal anti-desmoglein 3 IgG antibodies on pemphigus vulgaris blister formation. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 2621–2630 (2006).
44. Yoshida, K. *et al.* Non-pathogenic pemphigus foliaceus (PF) IgG acts synergistically with a directly pathogenic PF IgG to increase blistering by p38MAPK-dependent desmoglein 1 clustering. *J. Dermatol. Sci.* **85**, 197–207 (2017).

45. Afzali, A. M., Ruck, T., Wiendl, H. & Meuth, S. G. Animal models in idiopathic inflammatory myopathies: How to overcome a translational roadblock? *Autoimmun. Rev.* **16**, 478–494 (2017).
46. Allenbach, Y. *et al.* Role of Regulatory T Cells in a New Mouse Model of Experimental Autoimmune Myositis. *Am. J. Pathol.* **174**, 989–998 (2009).
47. Osaki, Y. *et al.* Skeletal muscle-specific HMG-CoA reductase knockout mice exhibit rhabdomyolysis: A model for statin-induced myopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **466**, 536–540 (2015).
48. Alarcon-Segovia, D., Ruiz-Arguelles, A. & Fishbein, E. Antibody to nuclear ribonucleoprotein penetrates live human mononuclear cells through Fc receptors. *Nature* **271**, 67–69 (1978).
49. Jang, E.-J., Nahm, D.-H. & Jang, Y.-J. Mouse monoclonal autoantibodies penetrate mouse macrophage cells and stimulate NF-kappaB activation and TNF-alpha release. *Immunol. Lett.* **124**, 70–76 (2009).
50. Song, Y.-C. *et al.* Arginines in the CDR of anti-dsDNA autoantibodies facilitate cell internalization via electrostatic interactions. *Eur. J. Immunol.* **38**, 3178–3190 (2008).
51. Yanase, K., Smith, R. M., Puccetti, A., Jarett, L. & Madaio, M. P. Receptor-mediated cellular entry of nuclear localizing anti-DNA antibodies via myosin 1. *J. Clin. Invest.* **100**, 25–31 (1997).
52. Hansen, J. E. *et al.* Intranuclear protein transduction through a nucleoside salvage pathway. *J. Biol. Chem.* **282**, 20790–20793 (2007).
53. Hansen, J. E. *et al.* Targeting cancer with a lupus autoantibody. *Sci. Transl. Med.* **4**, 157ra142 (2012).

Figures

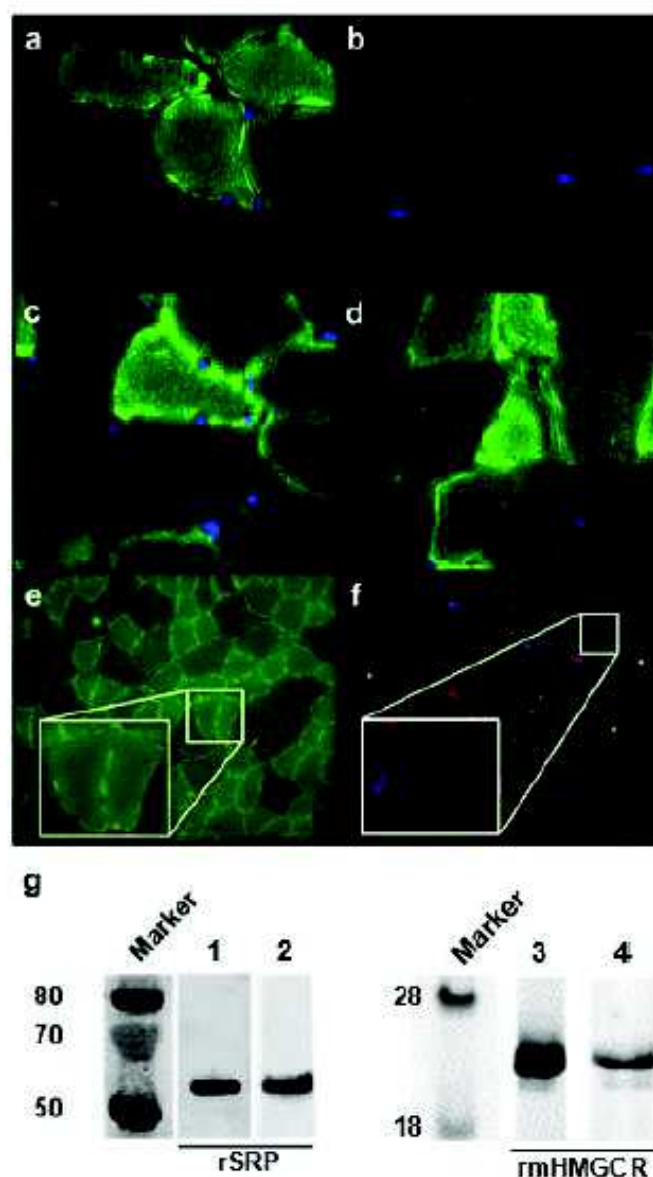


Fig. 1 Immune-mediated necrotizing myopathy-associated autoantibodies reactivity toward their cognate antigenic targets. Immunofluorescence analysis of mouse muscle after incubation with **a** mouse monoclonal anti-human SRP Ab + FITC-labeled secondary antibody, **b** secondary antibody alone, **c** anti-SRP⁺ patient plasma + FITC-labeled secondary antibody (representative experiment out of 8 plasmas tested), **d** purified IgG from another patient plasma + FITC-labeled secondary antibody (insert = secondary antibody alone). **e-f** Immunoaffinity-purified anti-SRP aAb from patient plasma + FITC-labelled anti-IgG secondary Ab (green) and co-staining with anti-fibronectin (red) without **e** or with **f** prior inhibition by free SRP54 protein. All counterstained with DAPI (blue). **g** Western blot of recombinant SRP54 protein (rSRP) revealed by immunoaffinity-purified human anti-SRP aAb (line 1) or goat anti-SRP Ab (line 2), or His-tagged recombinant murine HMGCR protein (rmHMGCR) revealed by anti-His antibody (line 3) or human anti-HMGCR⁺ IgG (line 4, representative experiment out of 4 patients' IgG tested).

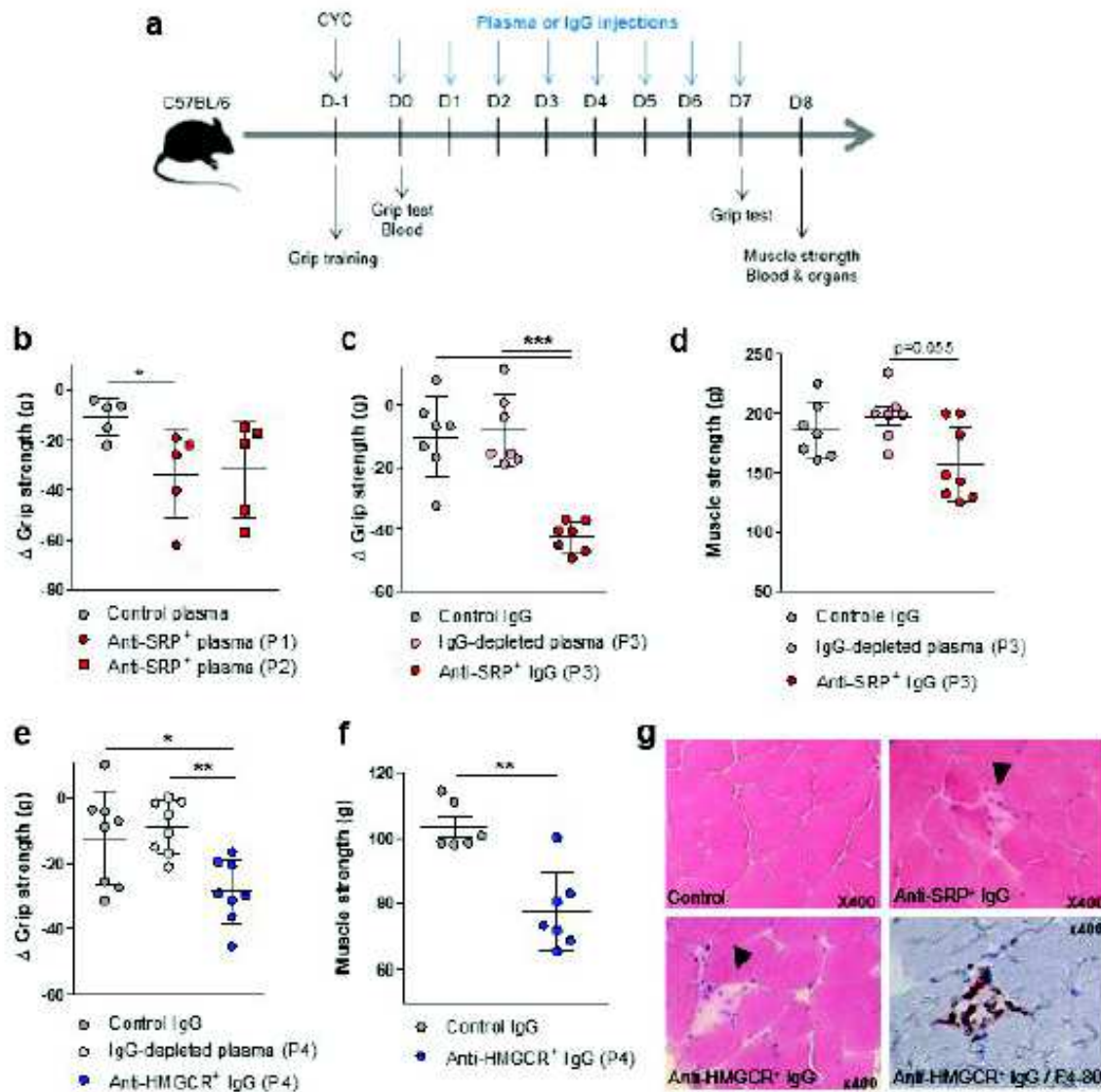


Fig. 2 Human anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ aAb are pathogenic in mice. **a** Experimental setting: C57BL/6 mice were transiently immunosuppressed by a single injection of cyclophosphamide (CYC) and received daily injections of: a plasma from two anti-SRP⁺ patients (P1 or P2) (n=5), c-e purified IgG or IgG-depleted plasma from anti-SRP⁺ (P3) or anti-HMGCR⁺ patients (P4) (n=6 à 8). Muscle strength was evaluated by b-d the variation in grip test performance between day 0 and day 7 (Δ Grip strength), and by e measurement of *gastrocnemius* contraction upon electrostimulation (Muscle strength). (b-e) All data are presented as mean $\pm$ SD; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 by Mann-Whitney two-tailed test. f Immunohistological analysis at day 8. Hematoxylin and eosin staining of muscle cryosection from a mouse injected with IgG from control, anti-SRP⁺ P1 or anti-HMGCR⁺ P4 patient. Arrowhead shows an example of necrotic myofiber. Immunohistological staining (lower panel) of F4/80⁺ macrophages, showing myophagocytosis of necrotic muscle fiber. Results shown in b and c are representative of two independent experiments.

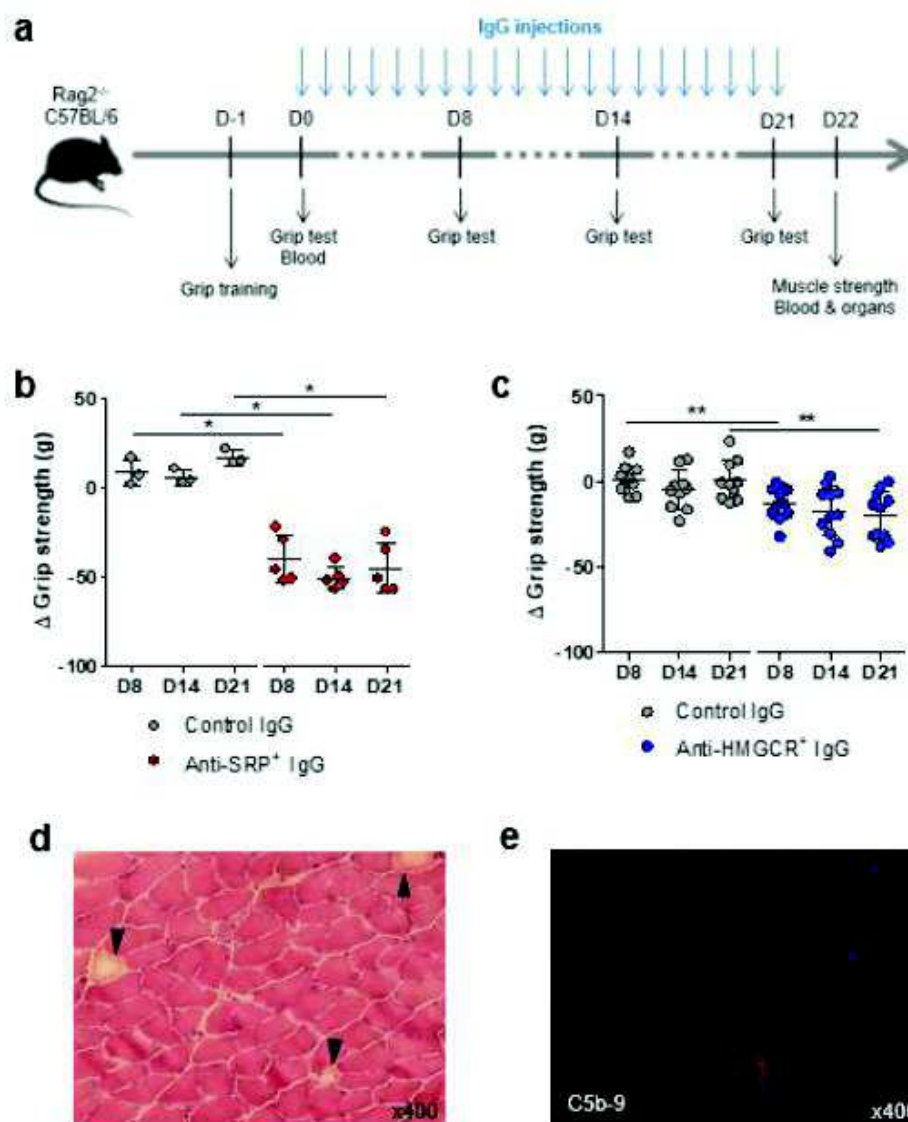


Fig. 3 Pathogenic effects of anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ autoantibodies are prolonged in immunodeficient mice. **a** Experimental setting: C57BL/6 $Rag2^{-/-}$ mice were injected daily with purified IgG from **b** an anti-SRP⁺ (P1) patient and **c** or an anti-HMGCR⁺ (P4) patient. Control is purified IgG from normal serum. Muscle strength was evaluated by grip test performance. All data are presented as mean $\pm$ SD; * p <0.05, ** p <0.01 by Mann-Whitney two-tailed test. **d** Multiple necrotic myofibers on H&E staining. **e** Complement C5b-9 deposits (purple) on the surface of myofibers in immunofluorescence staining and DAPI counterstaining (blue) on muscle frozen sections of mice receiving anti-SRP⁺ P1 patient IgG. Results shown are representative of two independent experiments.

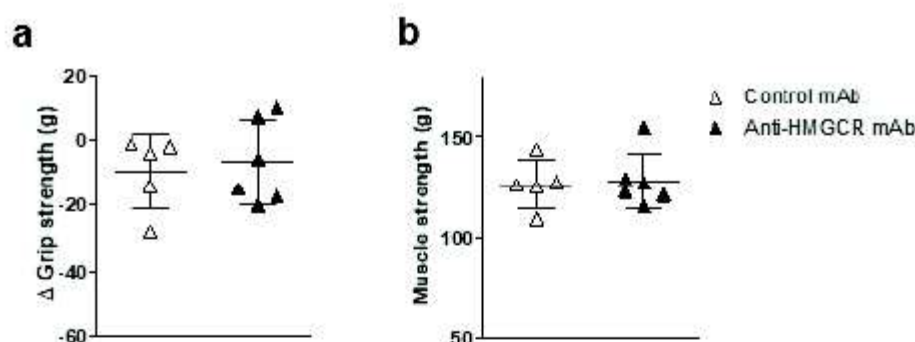


Fig. 4 Monoclonal targeting of HMGCRCR does not provoke myopathy. C57BL/6 mice were transiently immunosuppressed by a single injection of cyclophosphamide (CYC) (n=6). Then, a human anti-HMGCRCR mAb was injected intravenously at day 0 and day 3. Control is rituximab (anti-CD20 mAb). Muscle strength was evaluated at day 8 by a grip test performance and by b measurement of *gastrocnemius* contraction upon electrostimulation. All data are presented as mean $\pm$ SD by Mann-Whitney two-tailed test. Results shown are representative of two independent experiments.

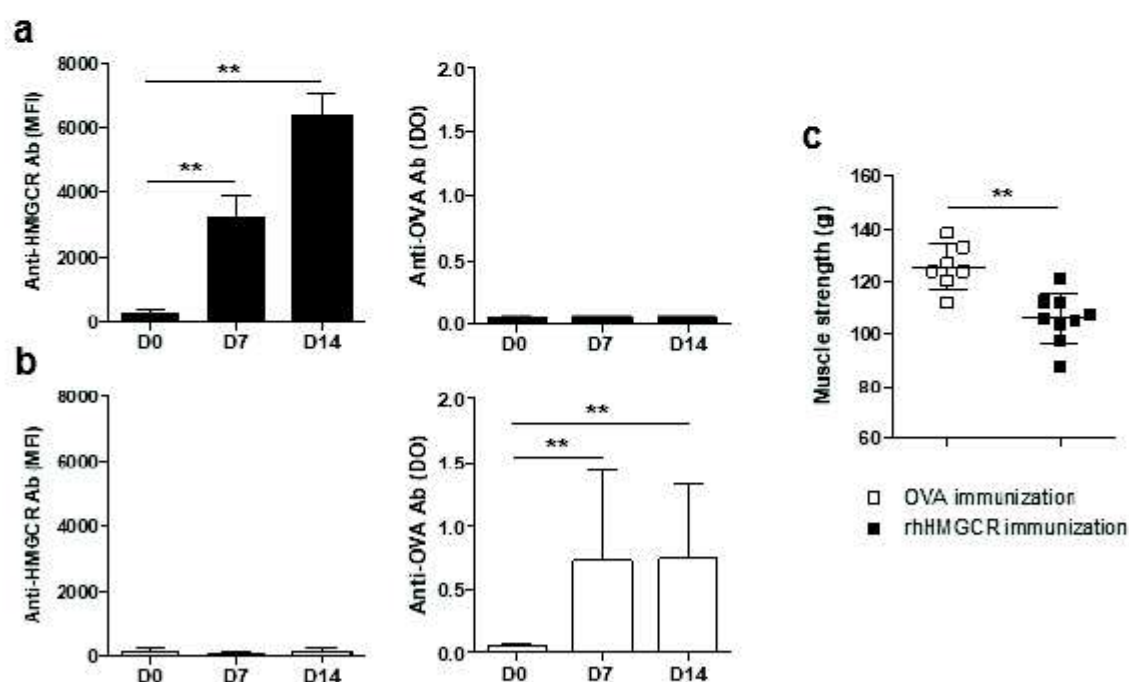


Fig. 5 Immunization with recombinant human HMGCRCR (rhHMGCRCR) provokes a muscle deficiency. Mice were immunized with rhHMGCRCR or ovalbumin (OVA) as control, in the presence of adjuvant. a Anti-HMGCRCR antibody levels in mouse serum were determined by addressable laser bead immunoassay (ALBIA) (n=10). b Anti-OVA antibody levels were determined by ELISA (n=10). c Muscle strength was evaluated at day 14 by measurement of *gastrocnemius* contraction upon electrostimulation (n=7 and 9). All data are presented as mean $\pm$ SD; **p<0.01, by Wilcoxon (a, b) or Mann-Whitney (c) two-tailed test. Results shown are representative of two independent experiments.

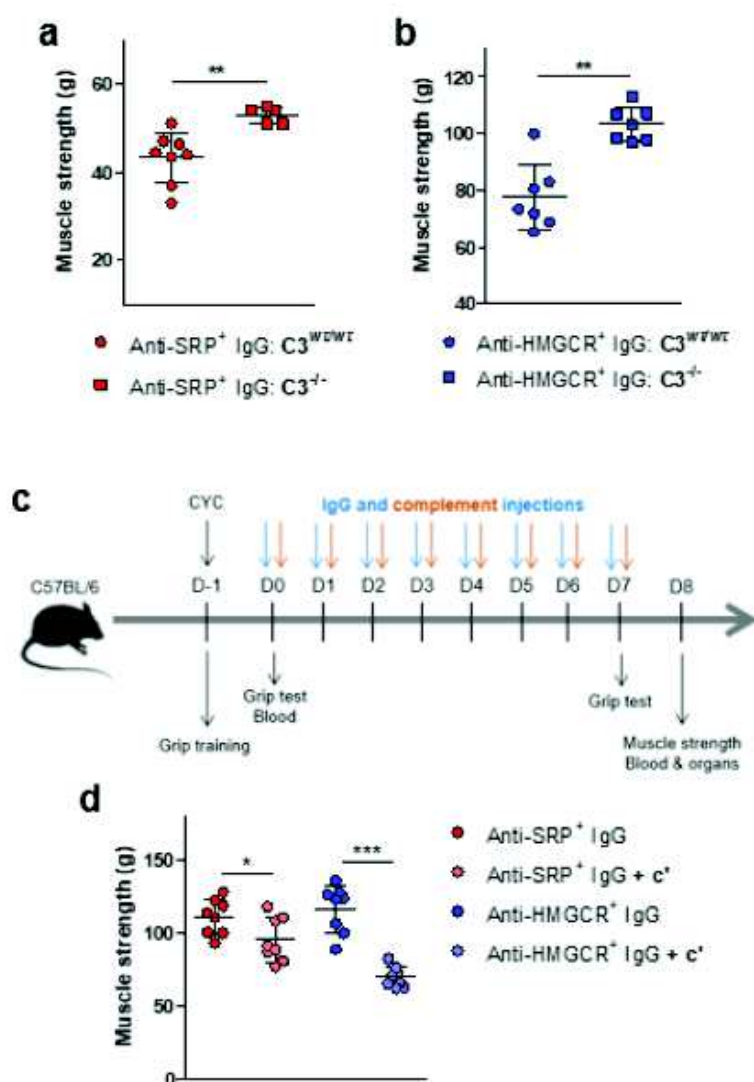


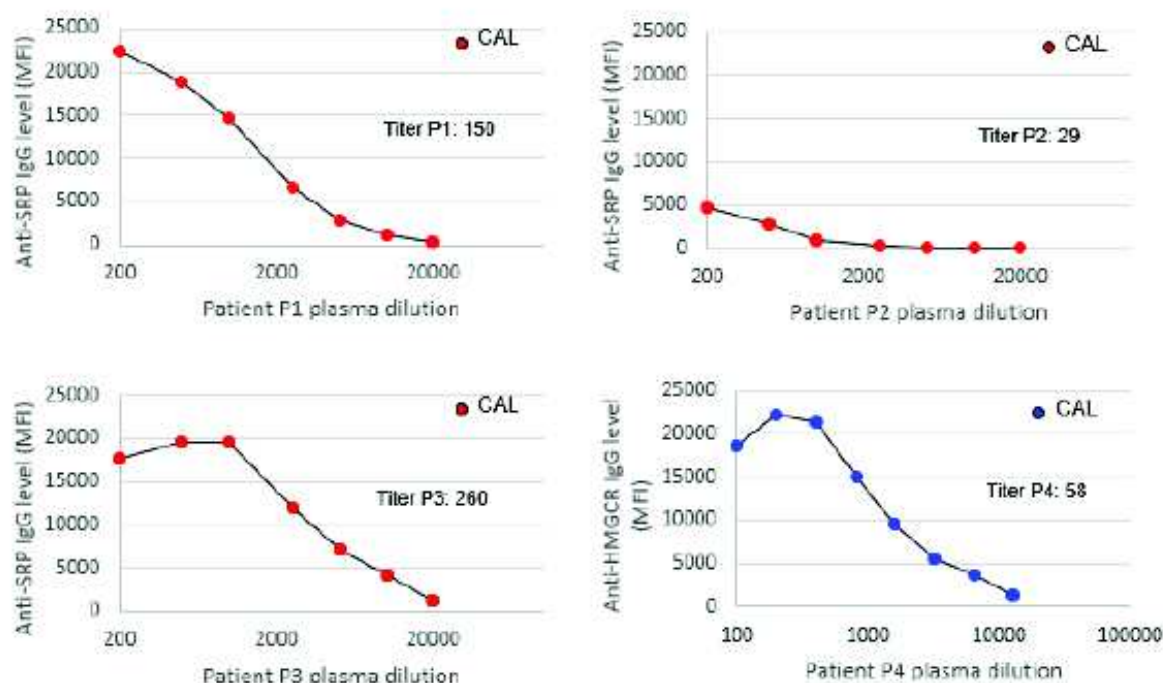
Fig. 6 Involvement of the complement system in anti-SRP and anti-HMGCR aAb pathogenicity. Complement C3-deficient (C3^{-/-}) or wild-type C57BL/6 (C3^{+/+}) mice (n=5 to 8) were transiently immunosuppressed by a single injection of cyclophosphamide (CYC) and received daily injections of purified IgG from **a** anti-SRP⁺ patient or **b** anti-HMGCR⁺ patient. Muscle strength was evaluated by measurement of *gastrocnemius* contraction strength at day 8 upon electrostimulation. **c** Besides, C57BL/6 mice were injected daily with anti-SRP⁺ or -HMGCR⁺ IgG in conjunction with or without human complement (c') (n=8). **d** Muscle strength was evaluated at day 8 by measurement of *gastrocnemius* contraction strength upon electrostimulation. All data are presented as mean±SD. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 by Mann-Whitney two-tailed test. Results shown are representative of two independent experiments (b&c)

Supplemental material and methods

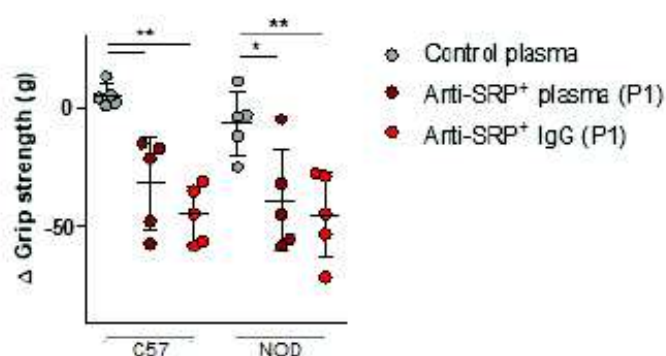
Passive transfer of human IgG into mice. 8-week-old NOD mice were divided into groups of 5 animals. They were injected intraperitoneally daily for 8 with control plasma, anti-SRP⁺ plasma or 2 mg of IgG purified from anti-SRP⁺ plasma. Mice received a single dose of 300 mg/kg of cyclophosphamide (Sigma) at day-1.

Quantification of mouse anti-human IgG. Serum samples were incubated with fluorescent microspheres (Bio-PlexR COOH, Bio-Rad) coated with purified human IgG according to manufacturer protocol. After washing, biotinylated goat anti-mouse IgG secondary Ab (Southern Biotech) followed by streptavidin-R-phycoerythrin were used to detect the level of mouse anti-human Ab. Sera from un-manipulated mice and non-immunosuppressed mice injected with IgG were used as negative and positive controls, respectively.

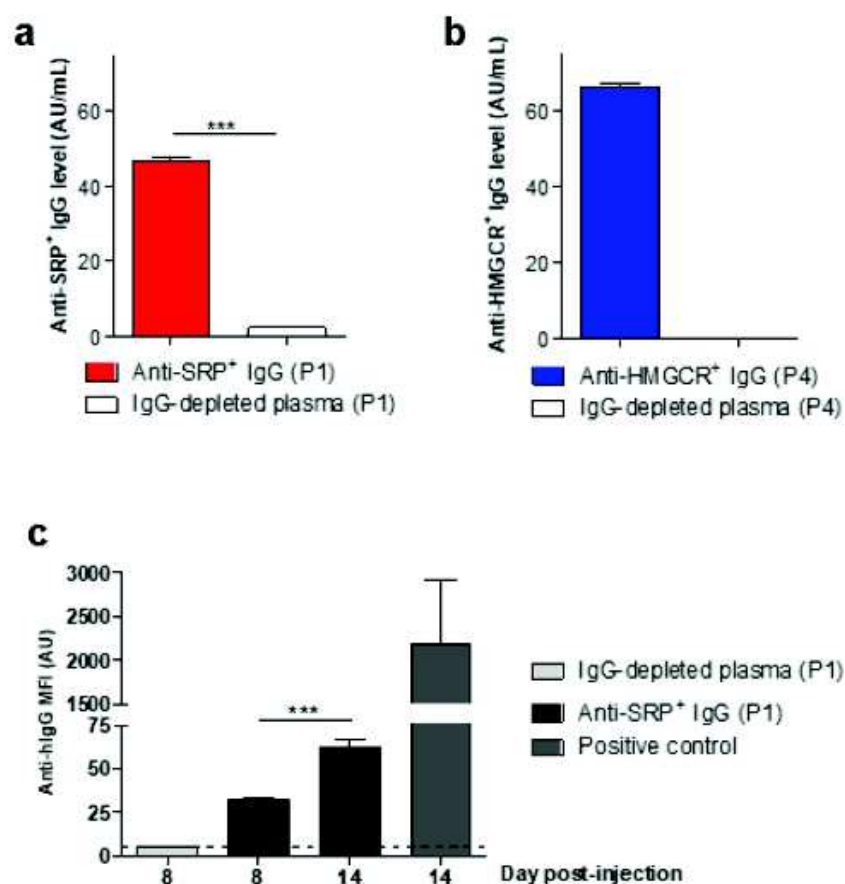
Supplemental figures



Suppl fig. 1 Dose dependent reactivity of anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies. The dose dependent reactivity of anti-SRP aAb was assessed in the plasma of four patients by addressable laser bead immunoassay (ALBIA) using SRP54 coupled beads (patients P1-P3, red) or HMGCR coupled beads (patient P4, blue). The calibrator (CAL) is a highly positive serum used as a reference whose level is arbitrarily set to 100 AU/mL to determine the titer of other samples.



Suppl fig. 2 Pathogenicity of human anti-SRP⁺ IgG in C57BL/6 and NOD mice. C57BL/6 and NOD mice (n=5) were transiently immunosuppressed by a single injection of cyclophosphamide (CYC) and received daily injections of plasma or purified IgG from anti-SRP⁺ P1 patient. Muscle strength was evaluated by grip test performance at day 8. All data are presented as mean $\pm$ SD. * p<0.05, ** p<0.01 by Mann-Whitney two-tailed test. Results representative of two independent experiments.



Suppl fig. 3 Human anti-SRP and anti-HMGCR aAb lead to xenoimmunisation. **a** Circulating level of anti-SRP and **b** anti-HMGCR aAb in the serum of injected mice by addressable laser bead immunoassay (ALBIA) at day 8 after daily injection. **c** Xenoimmunisation after injection of human products. C57BL/6 mice were immunosuppressed and injected daily with purified IgG or IgG-depleted plasma from an anti-SRP⁺ patient. Detection of murine anti-human IgG Ab in the serum of mice at day 8 or 14 after injection. Positive control is represented by non-immunosuppressed mice receiving IgG from an anti-SRP⁺ patient. Dotted line represents the level of anti-human IgG Ab in the serum of an un-manipulated mice. All data are presented as mean±SD. *** $p < 0.001$ by Mann-Whitney two-tailed test.

Les résultats de l'article N°2 nous ont donc permis de démontrer le rôle pathogène des aAc anti-SRP et anti-HMGCR *in vivo* chez la souris, ainsi que l'implication du complément dans le mécanisme physiopathologique.

B) Paramètres influençant la pathogénicité dans le modèle

Si le déficit musculaire après transfert d'IgG anti-HMGCR est mis en évidence de façon claire, il n'en demeure pas moins d'intensité modérée et parfois non-significatif (simple tendance) après un transfert de 8 jours. Chez les souris C57BL/6 (Article N°2), nous avons donc cherché à augmenter les effets induits par les aAc anti-HMGCR. Pour cela, j'ai répété les protocoles de transfert passif et d'immunisation en modifiant différents paramètres. Les paramètres investigués étaient liés à l'anticorps, comme la durée de l'injection, la quantité administrée ou l'immunisation contre un complexe HMGCR-statine, ou liés au receveur, comme l'âge ou le sexe. Après diverses approches, c'est finalement la supplémentation en complément humain qui a permis d'obtenir une atteinte clinique significative et reproductible avec les aAc anti-HMGCR comme il a été montré dans l'article N°2.

1. Paramètres liés aux anticorps

1.1. Influence de la cinétique et de la quantité

J'ai souhaité étudier la cinétique de l'atteinte musculaire conférée par les IgG anti-HMGCR⁺, ainsi que l'effet d'une augmentation de la quantité. Un transfert passif a été réalisé avec une injection unique d'une forte dose (15 mg au lieu de la dose usuelle quotidienne de 2 mg) d'IgG anti-HMGCR⁺, sans immunosuppression. Les effets ont été observés après seulement 24h. Une diminution significative de la performance au Grip Test et de la force musculaire a été mesurée entre les groupes IgG témoin et IgG anti-HMGCR⁺ (moyennes) : 1,3 g vs -31,1 g (Δ Grip Test, Figure 25A) et 148,7 g vs 120 g (force musculaire, Figure 25B). Cette diminution est de la même ampleur que lors d'un protocole classique (2 mg/jour pendant 8 jours). Aucune nécrose significative n'a toutefois été détectée à J1 après analyse histologique.

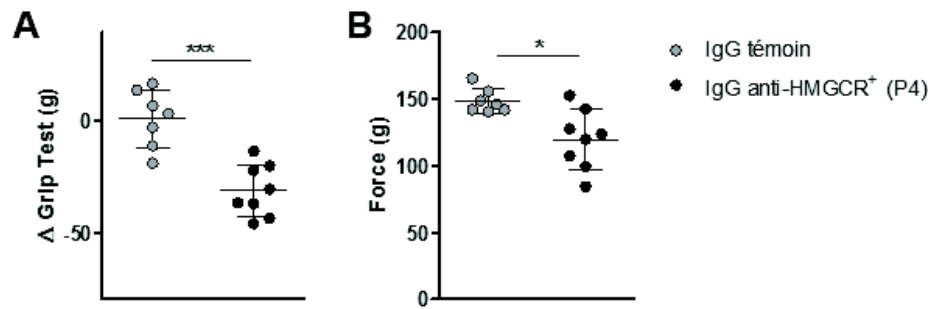


Figure 25 : Influence de l'injection d'une forte dose d'IgG anti-HMGCR⁺ sur une courte durée

Des souris C57BL/6 (n=7-8 par groupe) ont été injectées une fois à J0 avec 15mg d'IgG anti-HMGCR⁺ issues du patient P4 (selon la nomenclature de l'article N°2) ou d'IgG témoin. Leur force musculaire a été évaluée à 24h (A) par leur delta de performance au Grip Test entre J0 et J7 (Δ Grip Test) et (B) par mesure de la contraction du *gastrocnémius* sous électrostimulation (Force). Moyenne ± écart type. *p<0,05 ; ***p<0,001.

1.2. Influence de la quantité et du patient

La quantité d'aAc anti-HMGCR spécifiques au sein des IgG totales est un paramètre difficilement évaluable. Ayant accès à un abondant produit de plasmaphérèse d'un deuxième patient (P5) anti-HMGCR⁺ et donc à de grandes quantités d'IgG, j'ai entrepris d'augmenter la quantité d'IgG injectées aux souris et, par là même, celle des aAc anti-HMGCR. La quantité de 15mg/g/j a donc été comparée à la quantité de 2mg/j avec laquelle les effets sont habituellement observés (Article N°2, patient P4). Au préalable, la capacité des IgG anti-HMGCR⁺ à reconnaître l'HMGCR murine a été vérifiée (Figure 26A, colonne 2). Bien que les résultats obtenus en Grip Test n'aient montré aucune différence significative entre les groupes du fait d'une importante variabilité (Figure 26B), la force musculaire moyenne était significativement différente entre le groupe plasma déplété en IgG et le groupe IgG anti-HMGCR⁺ (2mg) (159,7 g vs 140,2 g) (Figure 26C). Aucune influence de la quantité d'IgG injectée n'a été observée. La dose de 2 mg semble donc suffisante pour atteindre, dans les conditions expérimentales données, un effet maximum

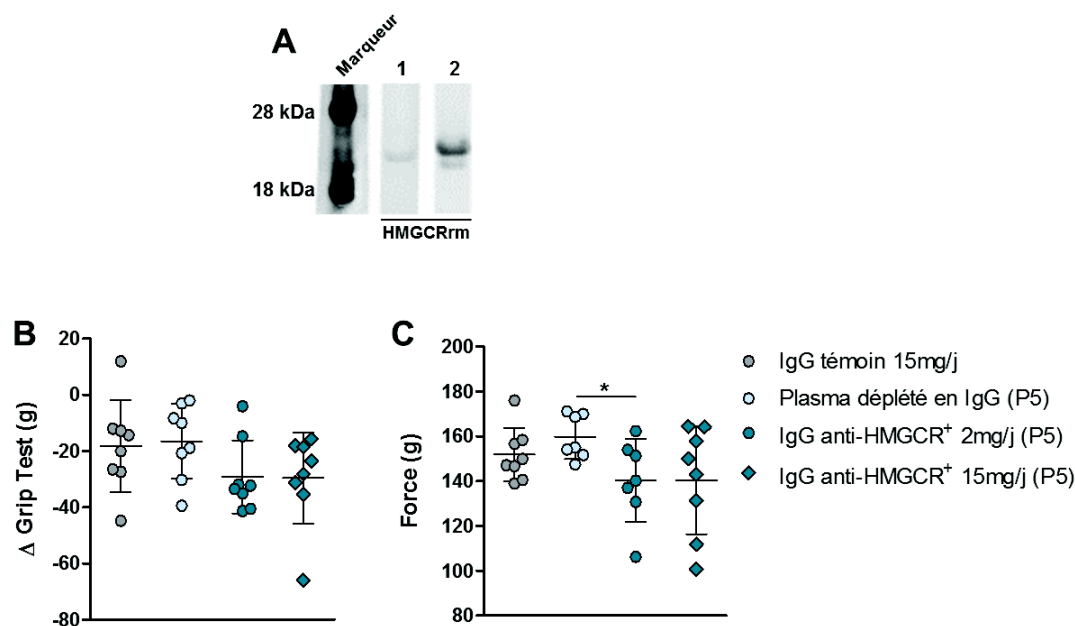


Figure 26 : Influence de l'injection d'une forte dose d'IgG

(A) Réactivité des IgG témoins (colonne 1) et des IgG anti-HMGCR⁺ du patient P5 (colonne 2) envers l'HMGCR recombinante murine (HMGCRrm) en Western Blot. **(B&C)** Des souris C57BL/6 (n=8 par groupe) ont été injectées quotidiennement avec 2 ou 15mg d'IgG anti-HMGCR⁺ purifiées à partir du plasma du patient P5, du plasma déplété en IgG ou 15mg d'IgG contrôle. Leur force musculaire a été évaluée à J8 **(B)** par leur delta de performance au Grip Test entre J0 et J7 (Δ Grip Test) et **(C)** par mesure de la contraction du muscle gastrocnémien sous électrostimulation (Force). Moyenne ± écart type. *p<0,05.

1.3. Influence de la cible

Les résultats de l'Article N°2 ont montré que, en plus du transfert passif d'IgG, l'immunisation par HMGCR aboutissait également à l'induction d'un déficit musculaire. Au cours d'un protocole d'immunisation, j'ai donc souhaité observer l'influence de l'utilisation d'un complexe HMGCR-statine comme antigène. L'hypothèse était que les patients atteints de MNAI à aAc anti-HMGCR et ayant pris des statines pourraient s'immuniser contre HMGCR mais aussi probablement contre le complexe enzyme-inhibiteur (HMGCR-statine). Contrairement au protocole d'immunisation décrit dans l'article N°2, les souris ont été immunisées par une protéine recombinante HMGCR (Sigma Aldrich), enzymatiquement active, ou l'ovalbumine (OVA) comme témoin. Chez 2 autres groupes, la rosuvastatine et l'HMGCR ont été ajoutées en quantité équimolaire dans la solution d'immunisation. L'HMGCR étant active à 37°C, les solutions contenant les statines ont été placées à cette température pendant 5 min avant l'injection afin de permettre la formation du complexe.

Les souris des deux groupes injectés avec l'HMGCR (+/- statine) se sont bien immunisées contre la cible, avec l'apparition de niveaux équivalents d'IgG anti-HMGCR (Figure 27A).

Cependant, de façon surprenante, le groupe immunisé avec la solution HMGCER-statine n'a pas développé de déficit musculaire dans cette expérience contrairement au groupe immunisé avec l'HMGCER seule (OVA vs HMGCER +statine : 152 g vs 148 g ; OVA vs HMGCER : 142 g vs 122 g). Aucune différence n'a été observée entre les groupes OVA +/- statine (152 g vs 142 g) (Figure 27B).

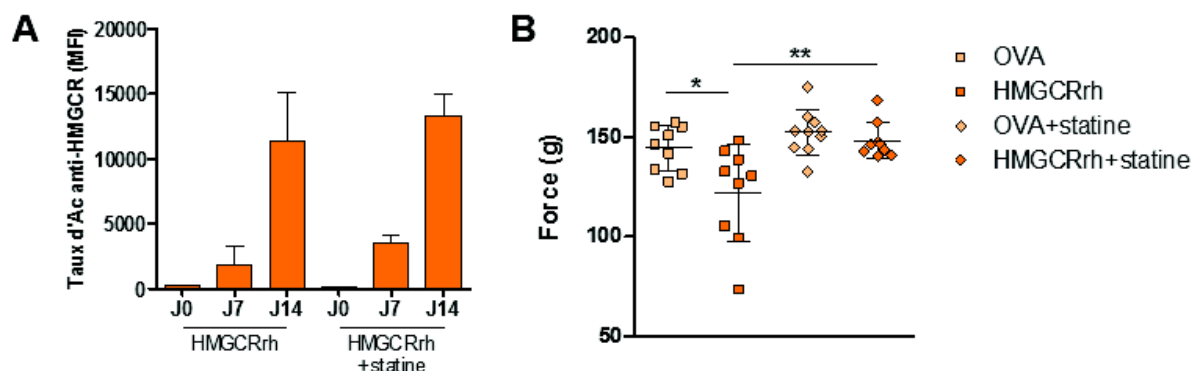


Figure 27 : Influence de la cible antigénique

Des souris C57BL/6 (n=10 par groupe) ont été immunisées avec une HMGCER recombinantes humaine (HMGCERrh) fusionnée à la glutathione-S-transférase ou de l'ovalbumine (OVA) comme témoin +/- une quantité équimolaire de rosuvastatine, en présence d'adjuvant. **(A)** Niveaux sériques d'IgG murine anti-HMGCER déterminé par ALBIA en MFI. **(B)** Evaluation de la force musculaire par mesure de la contraction du muscle gastrocnémien sous électrostimulation (Force). Moyenne $\pm$ écart type. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Les souris immunisées avec la solution HMGCER + statine ont donc développé des Ac anti-HMGCER non-pathogènes. Ce résultat inattendu pourra faire l'objet d'expériences complémentaires ultérieures.

1.4. Vers une étude des spécificités épitopiques : développement d'un anticorps monoclonal anti-HMGCER

Le déficit musculaire obtenu par immunisation des souris était relativement modéré par rapport aux résultats obtenus après transfert passif d'IgG (Article N°2). Au cours de certaines maladies auto-immunes, il existe des aAc non-pathogènes dirigés contre la même cible que des aAc pathogènes (Csorba et al., 2014; Roth et al., 2013). Des effets pathogènes synergiques entre aAc pathogènes et non-pathogènes sont possibles (Yoshida et al., 2017). Un AcM (Inova) a été testé dans l'Article N°2 mais n'a pas montré de potentiel pathogène. J'ai donc entrepris de développer des AcM anti-HMGCER pathogènes, grâce à notre capacité à immuniser des souris contre HMGCER. Ceux-ci pourraient par la suite être utilisés dans des protocoles de

transfert passifs, seuls ou en combinaison afin d'étudier leur spécificité épitopique et leur pathogénicité différentielle éventuelle.

1.4.1. Obtention des hybridomes

La souris C57BL/6 utilisée pour la fusion a été immunisée de la même façon que précédemment à J0, puis un rappel à J14 avec la même solution (HMGCR + ODN CpG, adjuvant à polarisation Th2) et, enfin, un rappel systémique par injection de protéine sans adjuvant par voie intraveineuse à J21. Les splénocytes et lymphocytes des ganglions drainants ont été fusionnés à une lignée de myélome murin SP2/O. Les hybridomes obtenus ont été sélectionnés en milieu hypoxanthine-aminoptérine-thymidine. Les surnageants de culture ont ensuite été testés pour la présence d'Ac anti-HMGCR.

1.4.2. Criblage

L'immunisation des souris ayant été réalisée avec une protéine HMGCR-GST identique à celle du test ALBIA, j'ai développé un second test ALBIA reposant sur l'utilisation de billes couplées à une HMGCR-His dans le but d'éviter de sélectionner des hybridomes produisant des Ac dirigés contre la GST (Figure 28).

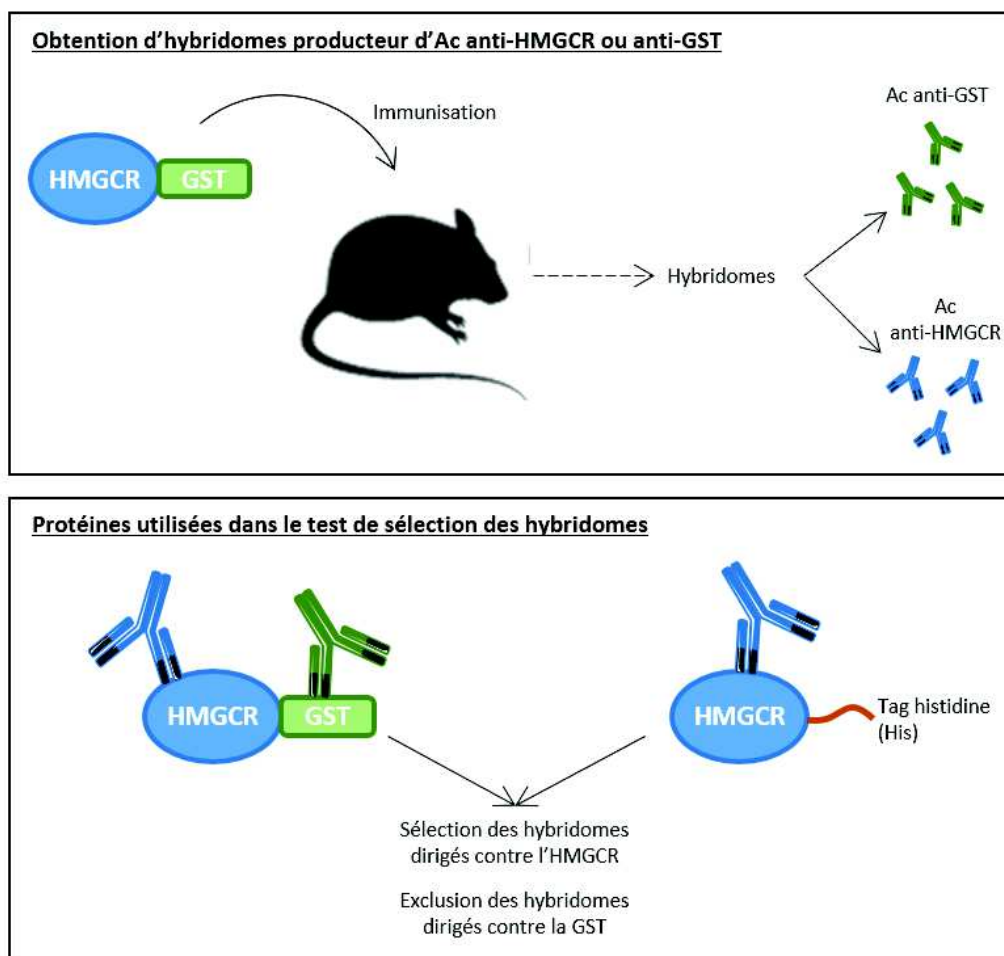


Figure 28 : Schéma explicatif du test de criblage des hybridomes

Comme en témoigne ces exemples de résultats (Tableau 19), ont été obtenus les hybridomes suivants :

Hybridome	HMGCR-His	HMGCR-GST	Résultats (MFI)
2.24	254	594	Négatif
4.22	508	10509	Positif pour l'HMGCR-GST seulement
4.23	3514	2697	Faiblement positif pour les 2 protéines
4.19	9539	2387	Moyennement positif pour l'HMGCR-His et faiblement pour l'HMGCR-GST
4.38	24919	22918	Fortement positifs pour les 2

Tableau 19 : Exemples de résultats obtenus lors du criblage des hybridomes

Vérification de la présence d'Ac anti-HMGCR dans le surnageant de culture des hybridomes par ALBIA sur protéine HMGCR couplée His ou GST. Les résultats sont exprimés en MFI (Mean fluorescence intensity). Le seuil de positivité a été déterminé de façon arbitraire à une MFI de 1000. La MFI maximale de cette technique est de 25000.

Les hybridomes produisant des AcM moyennement à fortement positifs pour l'HMGCR-His ont donc été sélectionnés et mis en expansion cellulaire *in vitro*. Parmi les AcM sélectionnés, l'hybridome 4.38 a été sous-cloné et plus particulièrement étudié.

1.4.3. Caractérisation

La sous-classe de l'AcM 4.38 a été déterminée par ALBIA avec l'utilisation d'Ac secondaires biotinylés anti-IgG1, anti-IgG2a, anti-IgG2b et anti-IgG3 (Southern Biotech) (Figure 29A). Ensuite, sa capacité de reconnaissance de l'HMCCR a été vérifiée dans différentes techniques :

- ELISA : l'HMCCR-His est fixée au fond des puits à 0,1 µg/puits en tampon carbonate-bicarbonate. Après saturation, une incubation est réalisée avec le surnageant de culture ou les sérums (pré-)immun de la souris dont sont issus les cellules utilisées lors de la fusion. Suivent l'incubation avec l'Ac secondaire couplé à la peroxidase et la révélation des puits positifs par lecture de l'absorbance à 450 nm (Figure 29B).
- Western Blot : une électrophorèse SDS-PAGE avec les protéines humaines HMCCR-His et HMCCR-GST (Figure 29C) ou HMCCR recombinante murine (HMCCR_{rm}, Figure 29D) suivie d'un transfert sur membrane de nitrocellulose, d'une incubation avec les surnageants/sérums d'intérêts ou l'AcM 4.38 directement couplé IRD800, et d'une révélation avec un Ac secondaire couplé IRD800 et une détection avec un scanner infrarouge Odyssey (Li-cor).
- Cytométrie : des myoblastes humains sont perméabilisés, ou non, puis incubés avec l'AcM 4.38 ou un isotype contrôle couplés à un Alexafluor 660 (ThermoFisher) (Figure 29E). L'acquisition est réalisée sur un BD Fortessa et l'analyse des données sur Kaluza.

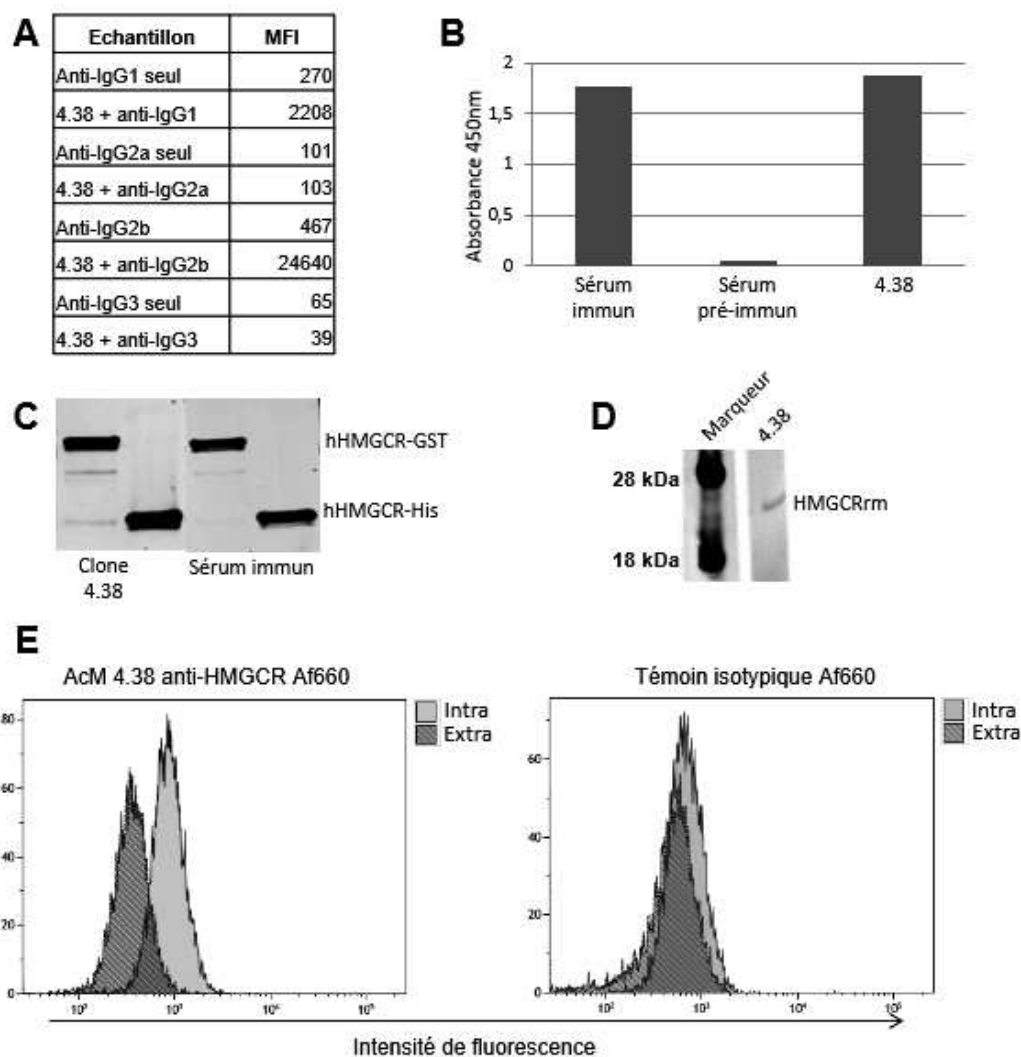


Figure 29 : Caractérisation de l'anticorps monoclonal 4.38

(A) Caractérisation de la sous-classe IgG de l'anticorps monoclonal (AcM) 4.38 par ALBIA. (B) Caractérisation de la reconnaissance en ELISA de l'HMGR-His, les sérums immun et pré-immun de la souris utilisée pour obtenir le clone 4.38 sont utilisés comme contrôles. (C) Caractérisation de la reconnaissance en Western Blot de l'HMGR-His et -GST par 3 clones différents. (A-C) Utilisation des surnageants de culture des clones produisant les AcM. (D) Reconnaissance de l'HMGR recombinante murine (HMGRrm) par l'AcM 4.38 couplé AlexaFluor® 800 en Western Blot. (E) Caractérisation de la reconnaissance par l'AcM 4.38 de l'HMGR endogène en cytométrie en flux sur myoblastes humains, un isotype marqué de la même façon que l'AcM est utilisé comme contrôle. Marquage extracellulaire (Extra) et intracellulaire (Intra).

La sous-classe de l'AcM 4.38 a été déterminée et sa capacité de reconnaissance des HMGR humaines et murines ont donc été validée dans diverses techniques : ELISA, Western Blot, Cytométrie (Figure 29). Cet AcM, ainsi que les autres AcM produits par nos soins (résultats non présentés), pourront être utilisés pour évaluer la pathogénicité en fonction du ou des épitopes ciblés.

2. Paramètres liés au receveur

2.1. Transfert aux nouveau-nés

L'étude de la pathogénicité des aAc au cours d'une autre maladie auto-immune liée à l'action d'aAc pathogènes, le pemphigus, a été principalement réalisée chez le souriceau, les effets observés étant moindres chez la souris adulte (España et al., 1997; Payne et al., 2005). Au vu de la pathogénicité modérée des aAc anti-HMGCR chez l'adulte, j'ai donc réalisé un transfert passif dans les mêmes conditions que chez l'adulte chez des souris nouveau-nés (âge : 24-48h, mâles et femelles, sans immunosuppression). 3 doses différentes d'IgG témoin ou anti-HMGCR⁺ ont été testées : 100 µg (équivalent quantité/poids adulte), 5 µg et 1 µg.

Ces expériences n'ont mis en évidence aucune différence au niveau du poids et de l'histologie du muscle n'a été observée entre les groupes. Il est probable que ceci soit lié à de plus faibles taux de complément à la naissance chez la souris, de la même façon que chez l'homme (Grumach et al., 2014; Lassiter et al., 1992). Il convient toutefois d'indiquer que seuls des effets majeurs (morbidity, léthalité) peuvent être observés chez ces souris où la mesure de la force musculaire est difficile.

2.2. Transfert aux souris mâles

Il a récemment été démontré que les souris femelles ont une activité réduite des composants terminaux de la voie classique du complément, particulièrement la fraction C9 (Kotimaa et al., 2016). Or, les expériences présentées ont toutes été réalisées chez les femelles (Article N°2, Fig. 2 à 6). J'ai donc tenté un transfert passif chez des souris mâles, afin d'observer une potentielle augmentation de la pathogénicité des IgG (résultats non présentés). Ici, les IgG anti-HMGCR⁺ et le plasma déplété correspondant des patients P4 et P5 ont été utilisés. Avec ces plasmas, les résultats de Grip Test se sont avérés extrêmement variables d'un individu à l'autre. A l'exception d'une différence entre le groupe IgG témoin et plasma déplété P4, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes d'intérêt. Au vu de ces résultats, il est difficile de conclure à une influence visible du sexe du receveur dans les conditions expérimentales données.

C) Reconnaissance antigénique des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR

Article N°3

Necrosis in anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ myopathies: role of auto-antibodies and complement

Yves Allenbach^{1-3*} MD, PhD, Louiza Arouche-Delaperche^{3*} PhD, Corinna Preusse¹ PhD, Helena Radbruch¹ MD, Gillian Butler-Browne³ PhD, Nicolas Champtiaux² MD, PhD, Kuberaka Mariampillai² MSc, Aude Rigolet² MD, Peter Hufnagl⁴ PhD, Norman Zerbe⁴, Damien Amelin³, Thierry Maisonobe⁵ MD, Sarah Louis-Leonard⁵ MD, Charles Duyckaerts⁵ MD, PhD, Bruno Eymard⁶ MD, PhD, Hans-Hilmar Goebel¹ MD, Cecile Bergua⁷ MSc, Laurent Drouot⁷ PhD, Olivier Boyer⁷ MD, PhD, Olivier Benveniste^{2,3§} MD, PhD, and Werner Stenzel^{1§} MD

Les aAc anti-SRP et anti-HMGCR possèdent donc des effets pathogènes *in vitro* (Arouche-Delaperche et al., 2017) et *in vivo* (Article N°2). Afin de préciser l'accessibilité des cibles à ces aAc, nous avons participé, avec les équipes de Benveniste (INSERM UMRS974) et Stenzel (Charité, Berlin), à l'étude de la reconnaissance antigénique par les aAc anti-SRP et anti-HMGCR sur des substrats musculaires. Cette collaboration a fait l'objet d'un article soumis au journal *Neurology*. En effet, la localisation décrite de SRP et HMGCR étant intracellulaire, leur accessibilité par les aAc pose la question d'une potentielle expression ectopique à la surface des cellules musculaires. Par co-marquage de protéines extra- et intra-sarcolemmales, la laminine 2 et la dysferline, nous avons ainsi pu montrer que les cibles SRP et HMGCR étaient détectables à la surface de myoblastes humains *in vitro* ainsi qu'à la surface de myofibres *ex vivo*. Ce travail a également quantifié pour la première fois la nécrose myocytaire et révélé qu'elle est modeste, typiquement inférieure à 4% (Article 3, Fig. 1). De plus, un pourcentage plus élevé chez les biopsies des patients présentant des aAc anti-SRP que chez les patients présentant des aAc anti-HMGCR, ainsi que la corrélation entre la nécrose myocytaire et les dépôts de complément, viennent étayer nos résultats concernant une pathogénicité plus élevée des aAc anti-SRP et l'implication du complément au cours des MNAI.

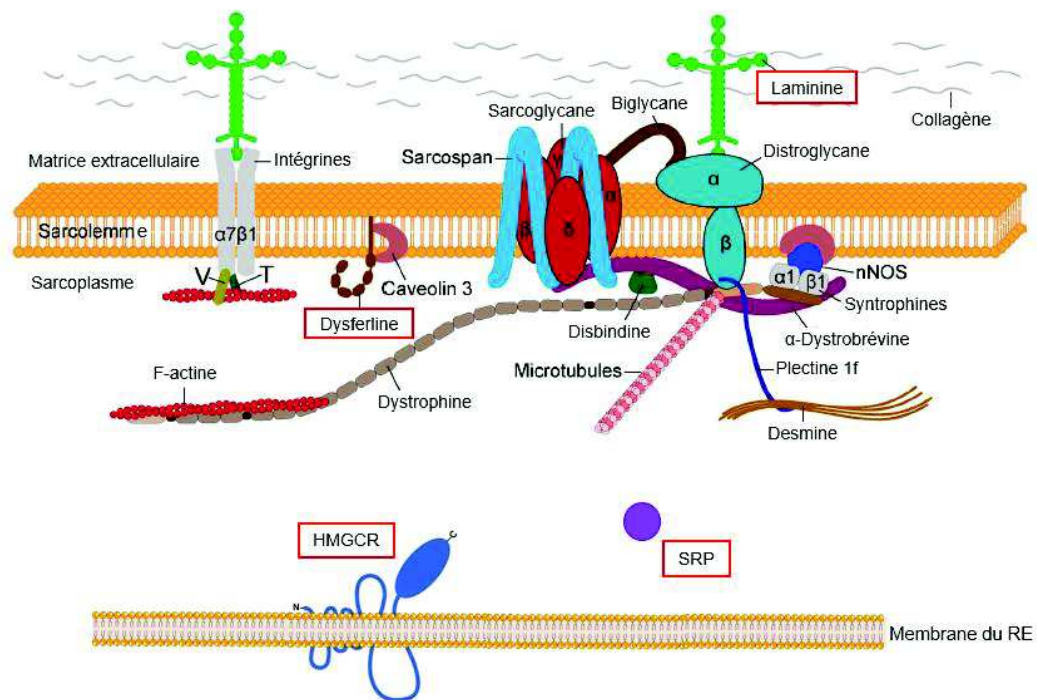


Figure 30 : Localisation des protéines d'intérêt au sein des fibres musculaires

Localisation des protéines Laminine et Dysferline au sein du complexe de protéines associées à la dystrophine. Localisation connue des protéines HMGCR et SRP. Encadrés rouges. Adapté de Rahimov and Kunkel, 2013

Necrosis in anti-SRP⁺ and anti-HMGCR⁺ myopathies: role of auto-antibodies and complement

Yves Allenbach^{1-3*} MD, PhD, Louiza Arouche-Delaperche^{3*} PhD, Corinna Preusse¹ PhD, Helena Radbruch¹ MD, Gillian Butler-Browne³ PhD, Nicolas Champiaux² MD, PhD, Kuberaka Mariampillai² MSc, Aude Rigolet² MD, Peter Hufnagl⁴ PhD, Norman Zerbe⁴, Damien Amelin³, Thierry Maisonobe⁵ MD, Sarah Louis-Leonard⁵ MD, Charles Duyckaerts⁵ MD, PhD, Bruno Eymard⁶ MD, PhD, Hans-Hilmar Goebel¹ MD, Cecile Bergua⁷ MSc, Laurent Drouot⁷ PhD, Olivier Boyer⁷ MD, PhD, Olivier Benveniste^{2,3§} MD, PhD, and Werner Stenzel^{1§} MD

¹ Department of Neuropathology, Charité - Universitätsmedizin, Berlin, Germany

² Internal Medicine department, Reference for Neuro-muscular diseases, Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, 83 boulevard de l'Hôpital Paris Cedex 13 France

³ Myology research center, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, INSERM UMRS974, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France

⁴ Department of Pathology, Charité - Universitätsmedizin, Berlin, Germany.

⁵ Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Department of Neuropathology, Paris, France

⁶ Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Institut de Myologie, Paris, France

⁷ Normandie University, UNIROUEN, INSERM, U1234, Rouen University Hospital, Department of Immunology, Rouen, France.

Title character count: 88

number of references: 32

number of tables: 0

number of figures: 5

word count abstract: 192

word count: 2954

Supplemental data: methods, figure e and table e

Corresponding author: Dr Yves ALLENBACH, Internal Medicine department, Reference for Neuro-muscular diseases, Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, 83 boulevard de l'Hôpital Paris Cedex 13 France, Phone: +33 (0) 1 42 16 10 66 Fax : +33 (0) 1 42 16 10 65, email: yves.allenbach@aphp.fr

Statistical Analysis conducted by Dr Y Allenbach MD-PhD

Search Terms: Necrotizing Myopathy; Autoantibodies; Signal Recognition Particle; 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Reductase; Myositis

*§ These authors contributed equally

Authors contributions:

Y. Allenbach, L. Arouche-Delaperche, W. Stenzel, and O. Benveniste: study concept and design, acquisition analysis and interpretation of data.

Corinna Preusse, Helena Radbruch, Gillian Butler-Browne, Nicolas Champtiaux, Kuberaka Mariampillai, Aude Rigolet, Peter Hufnagl, Norman Zerbe, Damien Amelin, Thierry Maisonobe, Sarah Louis-Leonard, Charles Duyckaerts, Bruno Eymard, Hans-Hilmar Goebel, Cecile Bergua, Laurent Drouot, Olivier Boyer: acquisition, analysis and interpretation of data.

Author disclosures:

Y. Allenbach reports no disclosures relevant to the manuscript.

L. Arouche-Delaperche reports no disclosures relevant to the manuscript.

C. Preusse reports no disclosures relevant to the manuscript.

H. Radbruch reports no disclosures relevant to the manuscript.

G. Butler-Browne reports no disclosures relevant to the manuscript.

N. Champtiaux reports no disclosures relevant to the manuscript.

K. Mariampillai reports no disclosures relevant to the manuscript.

A. Rigolet reports no disclosures relevant to the manuscript.

P. Hufnagl reports no disclosures relevant to the manuscript.

N. Zerbe reports no disclosures relevant to the manuscript.

D. Amelin reports no disclosures relevant to the manuscript.

T. Maisonobe reports no disclosures relevant to the manuscript.

S. Louis-Leonard reports no disclosures relevant to the manuscript.

C. Duyckaerts reports no disclosures relevant to the manuscript.

B. Eymard reports no disclosures relevant to the manuscript.

H.-H. Goebel reports no disclosures relevant to the manuscript.

C. Bergua reports no disclosures relevant to the manuscript.

L. Drouot reports no disclosures relevant to the manuscript.

O. Boyer reports no disclosures relevant to the manuscript.

O. Benveniste reports no disclosures relevant to the manuscript.

W. Stenzel reports no disclosures relevant to the manuscript.

Study Funding: Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI), Association Française contre les Myopathies (AFM), Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM) to YA.

Abstract

Objective: To characterize muscle fiber necrosis in immune-mediated necrotizing myopathies (IMNM) with anti-SRP or anti-HMGCR antibodies, and to explore its underlying molecular immune mechanisms.

Methods: Muscle biopsies from IMNM patients were analyzed, and compared to biopsies from control myositis patients. In addition to immunostaining and rtPCR on muscle samples, *in vitro* immunostaining on primary muscle cells was performed.

Results: Creatine kinase levels and muscle regeneration correlated with the proportion of necrotic fibers ($r=0.6$, $p<0.001$). CD68⁺iNOS⁺ macrophages and a Th-1 immune environment were chiefly involved in ongoing myophagocytosis of necrotic fibers. T cell densities correlated with necrosis but no signs of cytotoxicity were detected. Activation of the classical pathway of the complement cascade, accompanied by deposition of sarcolemmal immunoglobulins featured involvement of humoral immunity. Presence of SRP and HMGCR proteins on altered myofibers was reproduced on myotubes exposed to purified patient-derived autoantibodies. Finally, a correlation between sarcolemmal complement deposits and fiber necrosis was observed ($r=0.4$ and $p=0.004$).

Based on these observations we propose to update the pathological criteria of IMNM.

Conclusions: These data further corroborate the pathogenic role of anti-SRP and anti-HMGCR autoantibodies in IMNM, highlighting humoral mechanisms as key players in immunity and myofiber necrosis.

Les résultats de l'article N°3 nous ont permis de démontrer la présence des cibles SRP et HMGCR à la surface de myoblastes humains *in vitro* et à la surface des myofibres *in vivo*, rendant possible leur reconnaissance par les aAc sans nécessité absolue de pénétrer à l'intérieur des myofibres chez l'homme. Ces résultats lèvent une partie du voile quant aux mécanismes de reconnaissance de la cible des aAc au cours des MNAI, sans exclure toutefois un mécanisme additionnel de pénétration intracellulaire des aAc.

IV- DISCUSSION

A) Rôle pathogène des auto-anticorps anti-SRP et anti-HMGCR au cours des myopathies nécrosantes auto-immunes

Au cours de ces travaux, nous avons établi pour la première fois le caractère pathogène *in vivo* des aAc anti-SRP et anti-HMGCR ainsi que leur possible présence à la surface des myofibres.

1. Un premier modèle murin, encore perfectible

A l'initiative de ce travail, il n'existait aucun modèle d'étude *in vivo* de MNAI. Chez la souris C57BL/6, un déficit musculaire est induit, signe clinique observé chez les patients atteints de MNAI. Ce déficit est plus important avec les IgG anti-SRP⁺ qu'avec les anti-HMGCR⁺ en accord avec ce qui a été décrit dans la littérature où la MNAI à aAc anti-SRP apparaît plus grave que celle à aAc anti-HMGCR (Pinal-Fernandez et al., 2016). Les signes histologiques demeurent toutefois modestes avec les IgG anti-HMGCR⁺. Ces résultats sont également en accord avec ceux de l'Article N°3 dans lequel il est montré que les biopsies de patients positifs pour les aAc anti-HMGCR présentent deux fois moins de nécrose que les patients positifs pour les aAc anti-SRP (1,6% vs 3,2%, Article N°3, Fig. 1).

Une caractéristique commune aux patients testés est l'absence de pathogénicité du plasma déplété en IgG. Cela signifie que ni la multitude de protéines présentes dans le plasma ni les molécules provenant des traitements pris par le patient ne sont la cause du déficit musculaire des souris dans nos conditions expérimentales. J'ai pu mettre en évidence une variabilité de l'effet pathogène des IgG anti-HMGCR⁺ en fonction des patients étudiés. En effet, les IgG anti-HMGCR du patient P5 ne reproduisaient pas les effets obtenus avec le patient P4, avec une grande variabilité inter-souris, notamment en force musculaire sous électrostimulation (IgG témoin vs IgG anti-HMGCR⁺, P4 : 151 g vs 140 g, P5 : 103 g vs 77,5 g, Fig 21). Cette variabilité pourrait s'expliquer par le taux des aAc anti-HMGCR ou une réactivité épitopique différente.

Concernant le titre en aAc anti-HMGCR, il s'établit chez le patient P4 à 58 UA/mL et chez le patient P5 à 800 UA/mL. La pathogénicité observée chez les souris n'est donc pas fonction de la quantité d'aAc anti-HMGCR. De plus, à 8 jours, les souris présentent des titres d'aAc anti-HMGCR similaires à ceux des patients (données non présentées). Les taux d'aAc restant élevés

après rémission, il est possible que des aAc non-pathogènes soient présents à l'instar d'autres maladies auto-immunes telles que le pemphigus et les vascularites à ANCA (Csorba et al., 2014; Roth et al., 2013). Les aAc pathogènes représentent probablement un faible pourcentage des aAc totaux. Dans le cas d'autres maladies comme la myasthénie, les aAc anti-AChR capables d'activer le complément induisent des effets dose-dépendante (Kusner et al., 2015). Un effet dose-dépendant a également été démontré chez la souris avec les Ac anti-collagène de type II dans un modèle de polyarthrite rhumatoïde (Rademacher et al., 1994). Pour le patient P5, une dose plus importante d'IgG a été testée. Cependant, dans notre cas, l'augmentation de la quantité d'IgG injectées n'a pas induit d'augmentation du déficit musculaire ou de la nécrose à l'histologie dans nos conditions expérimentales.

La réponse auto-immune étant très certainement polyclonale, répondre à la question de la réactivité des différents aAc présents dans le sérum nécessiterait de réaliser une cartographie épitopique des aAc des patients. Il serait intéressant de cartographier et transférer les IgG d'un nombre plus important de patients pour déterminer l'incidence de cette variabilité. Cependant, les MNAI sont des maladies rares, et l'obtention d'une plasmaphérèse associée pour disposer d'une quantité suffisante d'IgG encore plus. La tentative de cartographie épitopique d'aAc anti-HMGCR d'un patient a identifié une dizaine d'épitopes linéaires, confirmant la polyclonalité de la réponse, mais l'utilisation d'une deuxième technique n'a pas permis de confirmer ces résultats (Musset et al., 2014).

La cartographie épitopique pourrait être utile concernant l'AcM dirigé contre HMGCR dont l'absence d'effet sur la force musculaire des souris a été démontré. Il serait intéressant de comparer l'épitope ciblé par cet AcM et celui/ceux ciblés par les patients. Un ciblage polyclonal d'HMGCR est peut-être indispensable à la pathogénicité. Par ailleurs, au cours d'autres maladies auto-immunes, des AcM dirigés contre la cible d'intérêt issus de l'homme se sont révélés pathogènes comme non-pathogènes (Csorba et al., 2014; Roth et al., 2013), et des aAc non-pathogènes lorsqu'ils sont isolés peuvent avoir un effet synergique lorsqu'ils sont en présence d'un aAc pathogène (Yoshida et al., 2017). Le développement d'autres AcM par nos soins pourrait permettre de tester le ciblage d'autres épitopes ou de plusieurs épitopes simultanément. De plus, les protéines HMGCR humaine et murine possédant 98% d'homologie (contre 100% pour SRP), la probabilité que notre AcM cible un épitope non partagé entre l'homme et la souris reste faible (Figure 31). Ceci pourrait également expliquer

que les IgG anti-HMGCR⁺ d'un patient soient plus pathogènes qu'un autre chez la souris (P4 vs P5) selon que les épitopes ciblés par ces patients soient présents ou non chez la souris. De façon intéressante, les résidus importants dans la fixation du substrat sont conservés entre l'homme et la souris (Figure 31, encadrés rouges), et les IgG anti-HMGCR⁺ des patients testés ainsi que l'AcM 4.38 reconnaissent l'HMGCR murine. Cette protéine correspond à une partie restreinte du domaine catalytique total (Figure 31, soulignée). Au vu de la complète homologie de cette séquence avec celle de l'homme, il est possible que les aAc des patients ciblent son pendant humain.

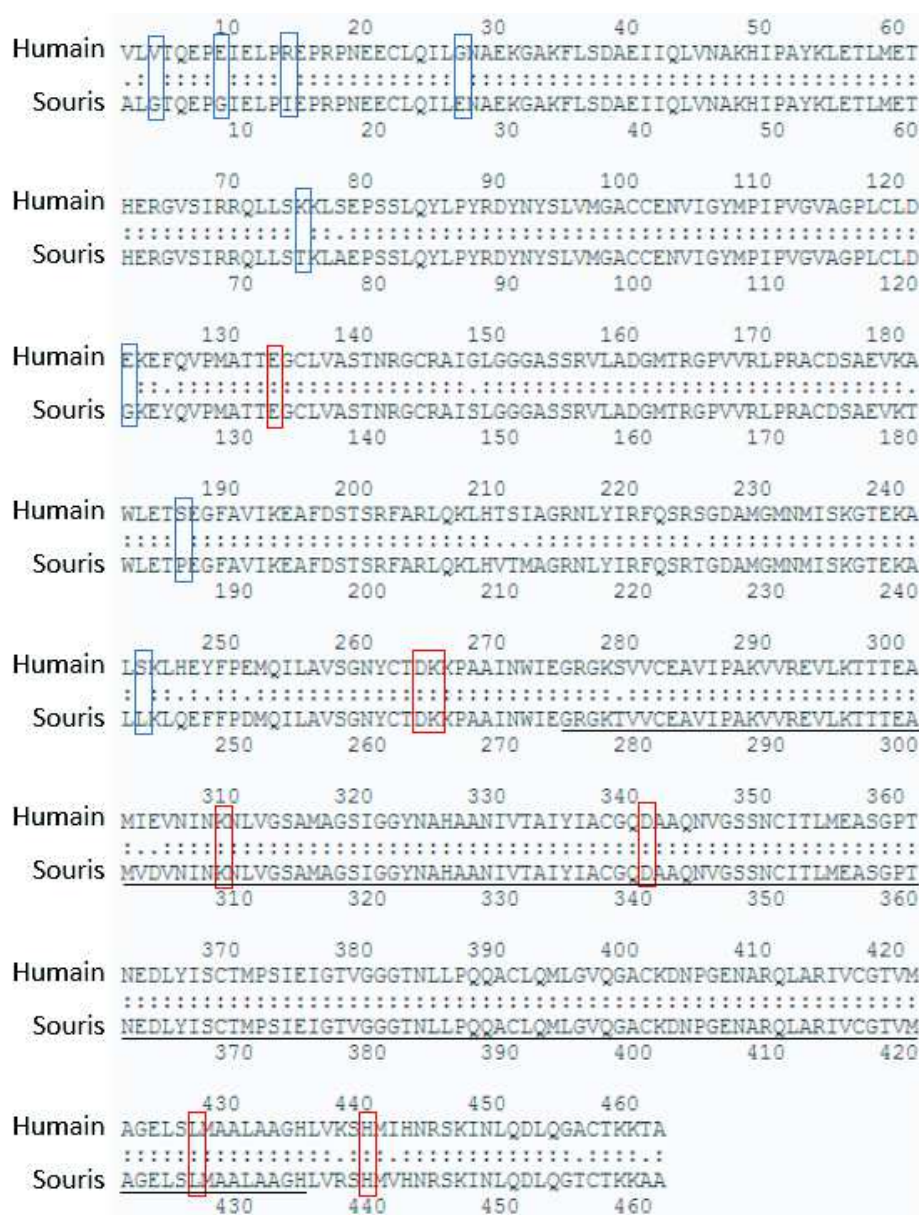


Figure 31 : Alignement des séquences Homme et Souris de la protéine HMGCR

Séquences du domaine catalytique. Les encadrés bleus correspondent aux acides-aminés non-conservés entre les deux espèces. Les encadrés rouges correspondent aux acides-aminés importants pour l'activité catalytique de HMGCR selon (Istvan et al., 2000).

Concernant le patient P4, une injection unique permet d'induire une perte de la force musculaire rapide, de la même ampleur que lors d'un protocole classique (Article N°2). Ceci n'est pas particulièrement étonnant si l'on considère la rapidité du passage des IgG entre la cavité péritonéale (site d'injection) et le sang, estimée à quelques heures (Mattes, 1987 ; et résultats non présentés), et la rapidité d'action du complément au cours du test de son activité hémolytique (lyse des globules rouges en moins d'une heure). Ces résultats suggèrent donc une cinétique rapide de la pathogénicité des aAc. Rappelons également que l'injection prolongée de souris Rag2^{-/-} n'entraîne pas d'aggravation du déficit musculaire. L'effet maximal chez la souris semble être obtenu de façon rapide. Chez l'homme, les MNAI sont des maladies chroniques. Il est donc possible que l'observation chez la souris d'un déficit musculaire équivalent à celui de l'homme, avec la présence de nécrose myocytaire, nécessite des injections chroniques bien au-delà de 21 jours. Ainsi, la nécrose myocytaire chez l'homme apparaît peut-être lors de cette chronicité et non au début de la présence des aAc.

Concernant le rôle des statines, selon les études, 15 à 100% des patients anti-HMGCR⁺ y ont été exposés. J'ai donc testé l'hypothèse que le complexe formé par l'HMGCR et les statines pourrait induire la production d'Ac particuliers chez l'homme, ciblant notamment le complexe HMGCR-statine. Cependant, une immunisation avec un mélange HMGCR-statine, contrairement à l'HMGCR seule, n'induit pas de déficit musculaire chez la souris. Il est possible que la dégradation et la présentation de ce complexe par les cellules présentatrices d'Ag soit différent de celui de l'HMGCR seule, générant des Ac reconnaissant l'HMGCR en ALBIA mais non-pathogènes. Il est également possible que des Ac non-pathogènes induisent un encombrement stérique et bloquent l'accès des Ac pathogènes par leur fixation à l'HMGCR, l'épitope pathogène étant alors masqué par la statine. De façon intéressante, les patients prenant des statines présentent des signes cliniques moindres que ceux des patients non-exposés aux statines (Ashton et al., 2016; Mammen et al., 2011; Tiniakou et al., 2017). Dans le contexte du paludisme, l'immunisation de souris avec un complexe fonctionnel formé par l'antigène membranaire apical 1 et la *rhostry neck protein 2* (indispensable à l'entrée du parasite dans les globules rouges) induit une protection complète contre le parasite homologue. L'immunisation simultanée contre les deux protéines n'induisait pas cette protection (Srinivasan et al., 2014). Un changement des épitopes ciblés par l'immunisation avec un complexe est donc possible bien que, dans ce cas, un complexe protéine-molécule et

non protéine-protéine a été utilisé. Cependant, n'ayant pas vérifié la complexation effective de l'HMGCR et de la statine au sein de la solution utilisée pour l'immunisation, il n'est pas à exclure que les conditions opératoires utilisées aient changé la conformation de la protéine HMGCR.

Par ailleurs, j'ai tenté de réaliser un transfert chez des souriceaux nouveau-nés dans l'optique d'obtenir un effet plus important des IgG anti-HMGCR⁺, comme ce qui a pu être observé dans le pemphigus (España et al., 1997; Payne et al., 2005). Chez le nouveau-né, il n'a pas été possible de mesurer la force musculaire. Seuls le poids et l'histologie du muscle étaient réalisables. Toutefois, comme chez l'adulte, aucune différence de poids entre les groupes, ni d'indication de lésion musculaire à l'histologie n'ont été observées (données non présentées). De plus, il est possible que de la même façon que chez l'homme, les souriceaux présentent des niveaux de complément moins élevés que l'adulte (Grumach et al., 2014; Lassiter et al., 1992).

Concernant l'implication du système du complément dans la physiopathologie de la MNAI, les dépôts de C5b-9 à la surface des fibres non-nécrotiques chez l'homme indiquent que ce phénomène pourrait précéder la nécrose et donc en être à l'origine (Allenbach et al., 2014; Chung et al., 2015; Troyanov et al., 2017). De plus, les IgG1, sous-classe activatrice du complément, sont majoritaires chez les patients atteints de MNAI anti-SRP⁺ et retrouvées exclusivement chez les patients atteints de MNAI anti-HMGCR⁺ (Benveniste et al., 2011; Drouot et al., 2014). Ces arguments nous ont poussé à explorer l'implication du complément. Les transferts réalisés chez la souris C3^{-/-}, révélant une diminution de l'atteinte musculaire en absence de complément ont confirmé l'implication du complément dans la pathogénicité des aAc anti-HMGCR et anti-SRP.

Dans cette logique, j'ai également essayé d'augmenter la pathogénicité des IgG anti-HMGCR⁺ en les transférant à des souris mâles. En effet, il a récemment été démontré que le complément des souris femelles est moins actif que celui des mâles (Kotimaa et al., 2016). J'ai donc réalisé un transfert passif d'IgG issues de 2 patients chez des souris mâles. Cependant, les résultats n'ont mis en évidence aucune différence entre les groupes d'intérêt. Malgré une activité du système du complément plus importante, les taux de complément de souris mâle restent faibles comparés à l'homme (Ong and Mattes, 1989). De plus, les souris mâles ayant une masse musculaire plus importante que celle des femelles (entre 30 à 40% de plus, Griffin

and Goldspink, 1973), il est possible que les faibles différences d'activités des IgG anti-HMGCR⁺ soient gommées par une masse musculaire intrinsèque supérieure.

C'est finalement la supplémentation des souris en complément humain, à l'instar d'un modèle étudiant la pathogénicité des aAc au cours de la neuromyélite optique (Saadoun et al., 2010), qui m'a permis d'obtenir un déficit musculaire important et reproductible avec les IgG anti-HMGCR (Article N°2, Fig. 6). Cependant, les signes histologiques n'étant toujours qu'anecdotiques, ce modèle est encore perfectible. La fonction musculaire pourrait être altérée sans induire d'atteinte histologique visible, ce qui pourrait être révélé par une analyse protéomique des muscles des souris transférées. A cet effet, une première expérience non reproduite et réalisée sur un faible nombre de souris (non supplémentées en complément), a montré des différences significatives dans le taux d'expression de protéines impliquées dans des voies métaboliques comme la phosphorylation oxydative, le cycle de Krebs et la glycolyse (Figure 32).

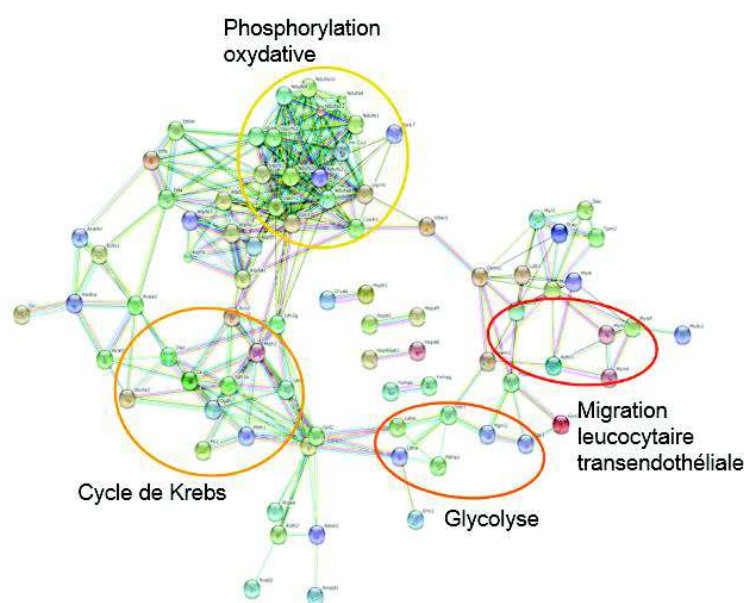


Figure 32 : Protéines différenciellement exprimées lors d'un transfert passif d'IgG anti-HMGCR⁺
Analyse protéomique des muscles de souris après transfert passif d'IgG témoins ou d'IgG anti-HMGCR⁺ (patient P4)

Ces observations chez l'homme, l'absence de déficit musculaire observé chez les souris C3^{-/-} recevant des IgG de patient MNAI ainsi que l'augmentation du déficit musculaire avec l'ajout de complément humain chez la souris suggèrent donc fortement un mécanisme dépendant du complément dans la pathogénicité des aAc anti-HMGCR. L'Eculizumab, AcM bloquant de la fraction C5 humaine, pourrait donc représenter un traitement pour les phases aiguës de la MNAI. En effet, ce traitement, initialement utilisé pour les patients atteints

d'hémoglobinurie paroxystique nocturne, a également démontré son efficacité au cours de la neuromyélite optique et de l'anémie hémolytique auto-immune (Pittock et al., 2013; Zanella and Barcellini, 2014). L'Eculizumab a d'ailleurs reçu l'autorisation des agences japonaises et américaines de sécurité du médicament pour son utilisation au cours de la neuromyélite optique (Alexion).

Une augmentation du déficit musculaire induit par les IgG anti-HMGCR avec l'ajout de complément humain a été observée, de façon plus drastique que pour les IgG anti-SRP⁺ dont l'effet est faiblement augmenté par cette supplémentation. Il est donc possible que la pathogénicité des aAc anti-SRP ne dépende pas uniquement du complément mais également d'effets directs liés à leur cible. En effet, il a été mis en évidence une capacité des aAc anti-SRP humains à inhiber l'activité du complexe SRP *in vitro* (Römisch et al., 2006). Ceci pourrait donc avoir une implication dans la physiopathologie des MNAI. En revanche, la capacité des aAc anti-HMGCR à bloquer fonctionnellement l'activité de HMGCR n'a pas encore été mise en évidence, mais il est intéressant de noter que l'invalidation génétique d'HMGCR spécifiquement dans le muscle induit une myopathie nécrosante (Osaki et al., 2015). De plus, les résultats obtenus sur culture de myoblastes en présence d'aAc anti-HMGCR et anti-SRP, induisant un défaut de différenciation ainsi qu'une atrophie, vont dans ce sens puisque cette étude a été réalisée sans ajout de complément (Arouche-Delaperche et al., 2017). Il serait donc intéressant d'étudier la capacité des aAc anti-HMGCR et anti-SRP à inhiber l'activité de leur enzyme cible *in vitro* au sein de culture de myoblastes, et *in vivo* chez les souris transférées en observant le taux d'expression d'HMGCR et SRP. Une autre possibilité serait de transférer les fragments Fab des aAc anti-HMGCR et anti-SRP afin d'observer la part non-dépendante du complément dans la pathogénicité des aAc, comme cela a été fait pour le pemphigus (Rock et al., 1990). Toutefois, de telles expériences se heurtent en partie à la difficulté d'obtenir des quantités suffisantes de matériel biologique.

Il a été démontré que le muscle des patients atteints de différentes myosites, et plus particulièrement les myofibres en régénération, surexpriment les aAg ciblés comme Mi2, Jo1, SRP et HMGCR (Casciola-Rosen et al., 2005; Mammen et al., 2009, 2011). La présence de myofibres en régénération pourrait donc contribuer à auto-entretenir la réponse auto-immune contre le muscle. Dans ce contexte, il serait intéressant de réaliser une immunisation ou un transfert passif chez des souris dont le muscle est activement en régénération, comme

(i) les souris TRE-H2Kb exprimant le CMH-I de façon inductible dans le muscle (Nagaraju et al., 2000b) ou (ii) des souris injectées par voie intramusculaire avec de la cardiotoxine, agent myonécrotique, induisant une nécrose myocytaire suivie d'une régénération. L'immunisation de souris TRE-H2Kb a déjà été réalisée avec l'aAg récemment identifié FHL1. Les souris présentaient une perte de la force musculaire, un pourcentage élevé de fibres en régénération à l'histologie et la surexpression de gènes reflétant la présence d'un infiltrat de LT (Albrecht et al., 2015). D'importants signes histologiques ont également été observés avec l'immunisation de souris par des myoblastes irradiés exprimant de façon ectopique l'HRS (Jo1) en parallèle d'un dommage musculaire induit par la cardiotoxine (Sciorati et al., 2015). Par ailleurs, il a été démontré que les statines induisent une augmentation de l'expression d'HMGCR *in vitro* (Morikawa et al., 2005). Si c'est également le cas *in vivo*, ce phénomène pourrait être impliqué dans la rupture de tolérance envers HMGCR.

2. Reconnaissance et accessibilité de la cible

In vivo, le cytoplasme des cellules musculaires étant accolé au sarcolemme, il est difficile de distinguer de façon précise et sûre un marquage cytoplasmique d'un marquage de surface avec les techniques de microscopie usuelles. Ainsi, un immunomarquage anti-dystrophine, protéine sous-membranaire, donne typiquement un aspect de marquage sarcolemmal. Le marquage des aAc anti-SRP sur muscle de souris observé en immunofluorescence indirecte dans l'article N°2 ne permet donc pas de déterminer si la protéine est localisée sur la face interne ou externe de la membrane cellulaire. L'article N°3 répond en partie à la question de l'accessibilité de la cible. En effet, sur des coupes de muscles humains atteints de MNAI, le marquage de SRP et HMGCR avec les aAc de patients et des Ac commerciaux co-localise avec la laminine- $\alpha 2$ et la dysferline, des protéines extracellulaire et trans-sarcolemmale respectivement (Figure 30). De plus, nous montrons que les aAc anti-SRP et anti-HMGCR reconnaissent une cible à la surface des myotubes. L'utilisation d'Ac commerciaux (monoclonal dans le cas de la cible HMGCR) en plus des aAc de patients semble exclure l'hypothèse d'une réactivité croisée des aAc avec une cible différente de SRP et HMGCR à la surface des myotubes et myofibres. Il est peu probable que des Ac commerciaux aient une réactivité croisée envers la même cible que les aAc humains.

Cependant, SRP étant une protéine cytosolique et HMGCR une protéine membranaire du réticulum endoplasmique exposée vers le cytosol, il reste à répondre à la question du

mécanisme de leur expression à la membrane. La possibilité d'une redistribution de la localisation vers la surface a été décrite dans un contexte d'apoptose pour les aAg nucléaires Ro/SSA et La/SSB, l'aAg cytoplasmique fodrine au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren (McArthur et al., 2002) ou l'aAg HRS (Sciorati et al., 2015). Ce mécanisme a également été proposé au cours du lupus, la mort cellulaire permettant le relargage d'aAg (Fenton, 2015; Kalaaji et al., 2007). De façon intéressante dans l'étude du syndrome de Gougerot-Sjögren, ce mécanisme était induit par la présence de TNF α (McArthur et al., 2002), cytokine surexprimée dans le muscle des patients atteints de MNAI (Article 3, Fig 4). Il est donc possible qu'un environnement pro-inflammatoire puisse induire une redistribution des protéines et donc la présence en surface des aAg SRP et HMGCR et puisse initier la réponse auto-immune, comme observé pour l'aAg HRS et explicité précédemment (Sciorati et al., 2015). Il serait intéressant de réaliser les mêmes marquages que dans l'Article N°3 sur des biopsies musculaires saines, bien que cela soit compliqué d'un point de vue éthique.

Dans ce contexte, la surexpression d'HMGCR en présence de statines pourrait constituer un facteur de risque supplémentaire. Concernant les statines certains arguments sont en faveur d'une relation de cause à effet directe comme (i) la rechute de certains patients lorsqu'une reprise du traitement hypocholestérolémiant est tentée (Needham et al., 2007; Ramanathan et al., 2015), (ii) le fort pourcentage de patients MNAI ayant pris des statines comparé à la population normale (Christopher-Stine et al., 2010; Klein et al., 2015; Werner et al., 2012). Mais il existe des cas de reprise de statine sans rechute (Allenbach et al., 2014) et d'autres arguments en défaveur d'une relation simple de cause à effet comme (i) la rareté des MNAI chez les personnes exposées aux statines (Mammen et al., 2012b), (ii) la durée parfois très longue de prise de statine avant le déclenchement de la maladie : jusqu'à 12 ans avec une moyenne de 3 à 6 ans (Grable-Esposito et al., 2010; Kennedy et al., 2016; Nichols et al., 2015; Troyanov et al., 2017), et l'association au même allèle HLA DRB1*11:01 des patients exposés ou non aux statines (Mammen et al., 2012a). Ces résultats ne sont pas en faveur de l'existence de deux mécanismes distincts induisant une MNAI à aAc anti-HMGCR. Les statines pourraient donc représenter un facteur aggravant plus que déclenchant, les MNAI à aAc anti-HMGCR nécessitant alors un terrain génétique particulier pour s'établir. Une cartographie épitopique pourrait utilement être réalisée chez les patients exposés ou non aux statines afin de déceler des différences potentielles de réactivité épitopique entre ces groupes de patients. Ceci

pourrait révéler des réactivités épitopiques distinctes si les mécanismes physiopathologiques sont différents.

Comme dans d'autres maladies auto-immunes, il est possible que les aAc soient présents avant l'apparition des symptômes (Eriksson et al., 2011; Jonsson, 2013; Nielen et al., 2004). La maladie aurait donc besoin d'un facteur déclenchant tel qu'un dommage tissulaire induisant un contexte inflammatoire et la mise au jour des aAg, pour démarrer. Le muscle étant un organe très sollicité et prompt aux dommages tissulaires (taux de CK élevés chez les sportifs après un effort musculaire intense, (Brancaccio et al., 2007), une personne génétiquement prédisposée présentant des aAc pourrait développer une réponse auto-immune suite à un effort intense. En effet, les fibres musculaires présentent de façon normale et régulière des trous dans leur membrane. Cela n'induit pas sa mort mais déclenche des mécanismes efficaces de réparation, impliquant la dysferline et la création de patches (Figure 33) (Rahimov and Kunkel, 2013), ou encore les cellules satellites (Figure 4). Cette particularité pourrait permettre aux aAc d'avoir accès à l'intérieur de la myofibre dans l'hypothèse où un muscle sain n'exprimerait pas les cibles HMGCR et SRP de façon ectopique.

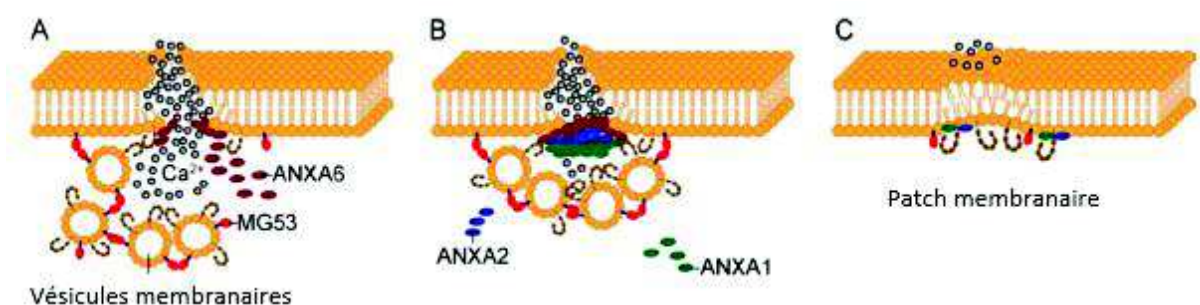


Figure 33 : Réparation du sarcolemme médiée par la Dysferline

(A) Dommage à la membrane due à des contractions répétées. La Mitsugumine 53 (MG53; rouge), localisée sur des vésicules intracellulaires liées à la membrane, oligomérisse lorsqu'elle est exposée à des composants oxydés extracellulaires (gris) et recrute des vésicules exprimant la dysferline au site du dommage. Simultanément, l'annexine 6 (ANXA6, marron) intracellulaire s'accumule à la lésion membranaire. **(B)** Avec la dysferline, ANXA6 recrute ANXA2 et ANXA1. **(C)** les niveaux élevés de Ca^{2+} intracellulaire facilitent la fusion des vésicules ensemble et avec le sarcolemme via des interactions entre la dysferline, les annexines, et d'autres protéines au site lésionnel, formant rapidement un patch membranaire.

Pour récapituler, ces travaux nous ont permis de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques liés aux aAc impliqués dans les MNAI. L'existence d'une variabilité de la pathogénicité des aAc anti-HMGCR parmi les patients positifs a été mise en évidence. Cette pathogénicité différentielle, n'étant pas corrélée au taux d'aAc, suggère la présence concomitante d'aAc non pathogènes au sein d'une réponse polyclonale. De la même façon, l'absence de pathogénicité d'un AcM anti-HMGCR démontre qu'un ciblage particulier (polyclonal ou d'un épitope en particulier) est nécessaire à la pathogénicité. Des expériences

de cartographie épitopique pourraient répondre à ces questions. Les expériences de transfert passif réalisées sur les souris Rag2^{-/-} (aAc anti-SRP et anti-HMGCR) et sur 24h (aAc anti-HMGCR) démontrent que les aAc entraînent un déficit musculaire maximal atteignant un plateau de façon rapide. Malgré la présence de nécrose plus marquée avec les aAc anti-SRP, aucun transfert passif n'a reproduit de façon fidèle les signes cliniques graves observés chez l'homme. Ceci suggère la nécessité de l'induction d'une chronicité et/ou d'un contexte particulier inflammatoire par exemple, ce qui pourrait être le cas chez l'homme en plus de prédisposition génétique. L'implication du complément dans le mécanisme physiopathologique des aAc a été démontrée par 2 méthodes différentes, donnant du poids à cette hypothèse, mais n'excluant pas la possibilité d'autres mécanismes parallèles comme l'inhibition de leur cible par les aAc. Dans notre modèle, la présence de statines avec la protéine HMGCR lors de l'immunisation mène au développement d'Ac anti-HMGCR non-pathogènes, suggérant entre autres, qu'elles pourraient masquer un épitope pathogène potentiel sur la protéine cible. Cette hypothèse est soutenue par la gravité moindre de la MNAI chez les patients exposés aux statines. Les statines se lient au niveau du site catalytique de HMGCR. Ces données, et celles démontrant une augmentation de l'expression d'HMGCR suggèrent un rôle ambigu des statines. Si elles bloquent l'accès à un épitope pathogène, il est donc possible que les aAc se fixent également au niveau du site catalytique et qu'ils aient un effet bloquant sur l'activité d'HMGCR. Enfin, la présence des cibles impliquées au cours des MNAI a été mise en évidence à la surface des myofibres chez les patients et de myotubes en culture, suggérant leur accessibilité pour les aAc. Il reste néanmoins de nombreuses questions quant à cette expression au sein du muscle sain avant le développement de la maladie, mais également concernant les mécanismes de leur expression à la membrane des myofibres. D'autres questions se posent quant à la cinétique d'apparition des aAc, qui pourraient être présents avant le développement des symptômes, mais aussi concernant le rôle potentiellement déclenchant, aggravant (surexpression de la cible) ou protecteur des statines (développement d'Ac peu ou pas pathogènes).

Je propose donc un schéma des mécanismes physiopathologiques menant à la MNAI (Figure 34). Dans le cas où les cibles sont exprimées à la surface des myofibres de façon basale, un facteur déclenchant comme une inflammation par exemple dans un contexte de prédisposition génétique pourrait mettre en place une réponse auto-immune. Si les myofibres

n'expriment pas les cibles de façon ectopique, des dommages causés à la membrane pourraient alors donner accès aux cibles et de la même façon (inflammation et prédisposition génétique) enclencher une réponse auto-immune. Les individus prédisposés pourraient avoir développé des aAc dirigés contre ces cibles en amont, facilitant alors ces mécanismes. Les aAc auraient ensuite un effet délétère dépendant du complément, mais également potentiellement direct sur leur cible, induisant soit des dommages réversibles au niveau des fibres musculaire, ou leur destruction totale (nécrose). Enfin, la régénération des myofibres, ainsi que les statines, en augmentant l'expression des cibles, pourraient engendrer un auto-entretien de la réponse auto-immune.

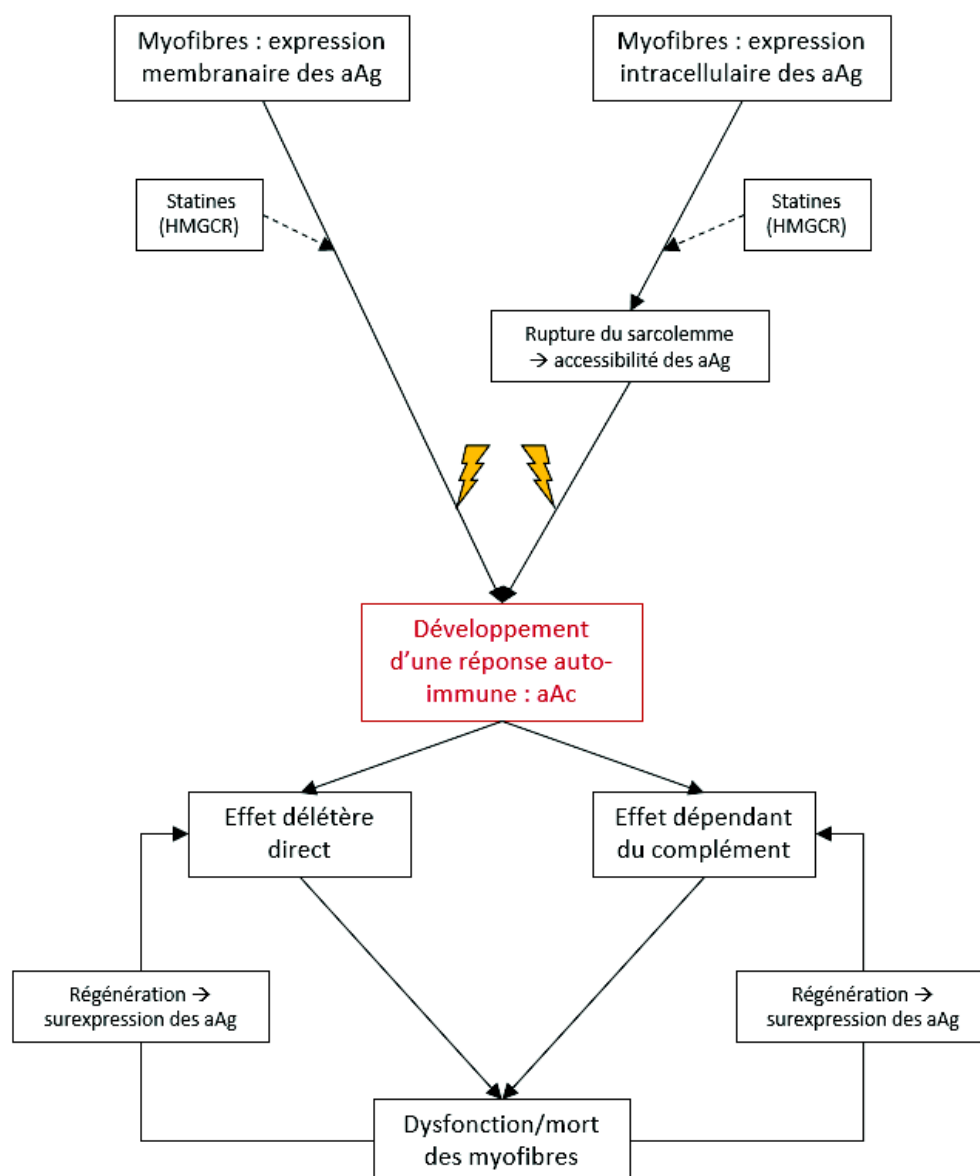


Figure 34 : Possible schéma de la physiopathologie des MNAI à auto-anticorps anti-SRP ou anti-HMGCR
 La présence éventuelle de statine pourrait augmenter l'expression de l'aAg HMGCR. Éclair jaune : facteurs déclenchants potentiels : dommage tissulaire, inflammation +/- prédisposition génétique

Au sein des MAI, le décryptage des mécanismes physiopathologiques n'en est qu'à ses débuts, ce qui est en grande partie expliqué par la classification en constante évolution de ces entités, leur rareté ainsi que l'absence de modèle animal fidèle. De plus, des concepts établis comme le fait que la DM serait une microangiopathie due au complément, sont réévalués par des études récentes (Day et al., 2017; Huard et al., 2017). La multiplicité des voies dont l'implication est suggérée au cours des MAI en témoigne : (i) l'immunité innée, avec les IFN-I (DM, PM), les cytokines et chimiokines (rôles pro-inflammatoire mais aussi pro-régénération), les motifs moléculaires associés aux dégâts (HMGB1, rôles pro-inflammatoire et pro-régénération), la réexpression du CMH-I, l'autophagie, l'inflammasome, (ii) l'immunité adaptative, avec les LT, LB, aAc spécifiques et associés, (iii) les cellules dendritiques, les récepteurs toll-like faisant le lien entre immunité innée et adaptative, et enfin (iv) les mécanismes non-immuns avec le dérèglement de voies métaboliques, le stress du réticulum endoplasmique, l'autophagie, les mécanismes dégénératifs au cours de l'IBM, sans oublier l'influence de l'environnement et des susceptibilités génétiques (Benveniste et al., 2015; Day et al., 2017; Rayavarapu et al., 2013; Reed and Ytterberg, 2002). La plupart de ces voies ont été impliquées dans la DM, la PM et l'IBM, faisant de celles-ci des maladies complexes, dont il est difficile d'estimer si les signes observés sont de l'ordre de la cause ou la conséquence. Sans nul doute, les MNAI sont des maladies aux mécanismes physiopathologiques tout aussi multiples, dont nous commençons juste à entrevoir la complexe intrication.

V- CONCLUSION et PERSPECTIVES

Les résultats obtenus au cours de mes travaux de thèse ont permis d'améliorer notre compréhension de la physiopathologie des MNAI en démontrant le rôle pathogène des aAc anti-SRP et anti-HMGCR, en démontrant un degré d'implication différentiel du système du complément dans la pathogénicité des aAc anti-SRP et anti-HMGCR dans le premier modèle murin de MNAI. Par ailleurs, nous avons également démontré la présence d'une cible pour ces aAc à la surface des myofibres *in vitro* et *in vivo* chez l'homme. Ces travaux suggèrent de nouvelles voies d'investigations concernant les mécanismes d'action des aAc anti-SRP et anti-HMGCR. Au laboratoire, la mise en place du tri et de l'immortalisation de LB spécifiques de l'HMGCR est en cours. Le rôle des statines sera également étudié sur des souris transférées passivement avec des aAc anti-HMGCR afin d'observer un potentiel effet aggravant. De plus, comme proposé, le pouvoir pathogène des AcM anti-HMGCR produits par nos soins sera testé chez la souris. Par ailleurs, ces travaux suggèrent l'utilisation de thérapies dirigées vers le complément en plus des thérapies ciblant les anticorps au cours des MNAI. Actuellement, un essai clinique est en cours pour étudier l'efficacité des IVIg comme traitement de première intention chez les patients atteints de MAI nouvellement diagnostiqués (identifiant eudraCT : NL58747). Celui-ci, avec un essai clinique sur l'abatacept, protéine de fusion entre le fragment Fc d'une IgG1 et le domaine extracellulaire du CTLA4, qui prévient l'activation des LT (identifiant clinicaltrials.gov : NCT02971683), sont les seuls à clairement individualiser et inclure les MNAI. En effet, parmi les essais cliniques récents, beaucoup se basent encore sur une classification des MAI en PM et DM. La meilleure description et compréhension des MNAI par nos travaux et ceux de nos collaborateurs devrait permettre une amélioration de la reconnaissance des MNAI par la communauté médicale et scientifique, ainsi que le développement d'essais cliniques adaptés.

ANNEXE

Distinctions

Projet gagnant de la Bourse de Recherche CSL Behring 2015 (20 000€)

Communications orales

1st International Conference on Myositis - Stockholm 2015

Réunion du Centre de Compétences Neuromusculaires Caen-Rouen 2015

Journée annuelle de l'IRIB 2015 (prix de la meilleure communication orale)

Opération 1000 chercheurs dans les écoles AFM

Communications affichées

Journée Normande de Recherche Biomédicale 2016

Réunion annuelle de la Société Française d'Immunologie 2016

Formations suivies

Expérimentarium (vulgarisation scientifique)

Expérimentation animale niveau 1

Chirurgie expérimentale

BIBLIOGRAPHIE

Adams, E.M., Chow, C.K., Premkumar, A., and Plotz, P.H. (1995). The idiopathic inflammatory myopathies: spectrum of MR imaging findings. *Radiogr. Rev. Publ. Radiol. Soc. N. Am. Inc* 15, 563–574.

Afzali, A.M., Ruck, T., Wiendl, H., and Meuth, S.G. (2017). Animal models in idiopathic inflammatory myopathies: How to overcome a translational roadblock? *Autoimmun. Rev.* 16, 478–494.

Aggarwal, R., Cassidy, E., Fertig, N., Koontz, D.C., Lucas, M., Ascherman, D.P., and Oddis, C.V. (2014). Patients with non-Jo-1 anti-tRNA-synthetase autoantibodies have worse survival than Jo-1 positive patients. *Ann. Rheum. Dis.* 73, 227–232.

Aggarwal, R., Oddis, C.V., Goudeau, D., Fertig, N., Metes, I., Stephens, C., Qi, Z., Koontz, D., and Levesque, M.C. (2015). Anti-signal recognition particle autoantibody ELISA validation and clinical associations. *Rheumatology* 54, 1194–1199.

Akopian, D., Shen, K., Zhang, X., and Shan, S. (2013). Signal Recognition Particle: An Essential Protein-Targeting Machine. *Annu. Rev. Biochem.* 82, 693–721.

Alarcón-Segovia, D., and Llorente, L. (1983). Antibody penetration into living cells. IV. Different effects of anti-native DNA and anti-ribonucleoprotein IgG on the cell cycle of activated T gamma cells. *Clin. Exp. Immunol.* 52, 365–371.

Alarcon-Segovia, D., Ruiz-Arguelles, A., and Fishbein, E. (1978). Antibody to nuclear ribonucleoprotein penetrates live human mononuclear cells through Fc receptors. *Nature* 271, 67–69.

Albrecht, I., Wick, C., Hallgren, Å., Tjärnlund, A., Nagaraju, K., Andrade, F., Thompson, K., Coley, W., Phadke, A., Diaz-Gallo, L.-M., et al. (2015). Development of autoantibodies against muscle-specific FHL1 in severe inflammatory myopathies. *J. Clin. Invest.* 125, 4612–4624.

Allenbach, Y., Solly, S., Grégoire, S., Dubourg, O., Salomon, B., Butler-Browne, G., Musset, L., Herson, S., Klatzmann, D., and Benveniste, O. (2009). Role of Regulatory T Cells in a New Mouse Model of Experimental Autoimmune Myositis. *Am. J. Pathol.* 174, 989–998.

Allenbach, Y., Drouot, L., Rigolet, A., Charuel, J.L., Jouen, F., Romero, N.B., Maisonobe, T., Dubourg, O., Behin, A., Laforet, P., et al. (2014). Anti-HMGCR autoantibodies in European patients with autoimmune necrotizing myopathies: inconstant exposure to statin. *Medicine (Baltimore)* 93, 150–157.

Allenbach, Y., Keraen, J., Bouvier, A., Jooste, V., Champtiaux, N., Hervier, B., Schoindre, Y., Rigolet, A., Gilardin, L., Musset, L., et al. (2016). High risk of cancer in autoimmune necrotizing myopathies: usefulness of myositis specific antibody. *Brain* 139, 2131–2135.

Allenbach, Y., Benveniste, O., Goebel, H.-H., and Stenzel, W. (2017). Integrated classification of inflammatory myopathies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 43, 62–81.

- Allton, K., Jain, A.K., Herz, H.-M., Tsai, W.-W., Jung, S.Y., Qin, J., Bergmann, A., Johnson, R.L., and Barton, M.C. (2009). Trim24 targets endogenous p53 for degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 11612–11616.
- Almeida, S., Braga, M., and Santos, M.J. (2016). Juvenile dermatomyositis with anti-signal recognition particle antibodies: a case report. *Acta Reumatol. Port.* *41*, 162–164.
- Alshehri, A., Choksi, R., Bucelli, R., and Pestronk, A. (2015). Myopathy with anti-HMGCR antibodies: Perimysium and myofiber pathology. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation* *2*, e124.
- Amato, A.A., and Griggs, R.C. (2003). Unicorns, dragons, polymyositis, and other mythological beasts. *Neurology* *61*, 288–289.
- Andersen, C.B.F., Madsen, M., Storm, T., Moestrup, S.K., and Andersen, G.R. (2010). Structural basis for receptor recognition of vitamin-B(12)-intrinsic factor complexes. *Nature* *464*, 445–448.
- Andersson, J., Englund, P., Sunnemark, D., Dahlstedt, A., Westerblad, H., Nennesmo, I., Orn, A., and Lundberg, I.E. (2003). CBA/J mice infected with *Trypanosoma cruzi*: an experimental model for inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* *27*, 442–448.
- Anhalt, G.J., Till, G.O., Diaz, L.A., Labib, R.S., Patel, H.P., and Eaglstein, N.F. (1986). Defining the role of complement in experimental pemphigus vulgaris in mice. *J. Immunol. Baltim. Md* *137*, 2835–2840.
- Aouizerate, J., De Antonio, M., Bassez, G., Gherardi, R.K., Berenbaum, F., Guillemin, L., Berezne, A., Valeyre, D., Maisonobe, T., Dubourg, O., et al. (2014). Myofiber HLA-DR expression is a distinctive biomarker for antisynthetase-associated myopathy. *Acta Neuropathol. Commun.* *2*, 154.
- Arouche-Delaperche, L., Allenbach, Y., Amelin, D., Preusse, C., Mouly, V., Mauhin, W., Tchoupou, G.D., Drouot, L., Boyer, O., Stenzel, W., et al. (2017). Pathogenic role of anti-signal recognition protein and anti-3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase antibodies in necrotizing myopathies: Myofiber atrophy and impairment of muscle regeneration in necrotizing autoimmune myopathies: Anti-SRP and Anti-HMGCR. *Ann. Neurol.* *81*, 538–548.
- Ashton, C., Junckerstorff, R., Bundell, C., Hollingsworth, P., and Needham, M. (2016). Treatment and outcomes in necrotising autoimmune myopathy: An Australian perspective. *Neuromuscul. Disord.*
- Askanas, V., Engel, W.K., and Mirabella, M. (1994). Idiopathic inflammatory myopathies: inclusion-body myositis, polymyositis, and dermatomyositis. *Curr. Opin. Neurol.* *7*, 448–456.
- Baghdadi, M.B., and Tajbakhsh, S. (2017). Regulation and phylogeny of skeletal muscle regeneration. *Dev. Biol.*

Bansal, P.J., and Tobin, M.C. (2004). Neonatal microscopic polyangiitis secondary to transfer of maternal myeloperoxidase–antineutrophil cytoplasmic antibody resulting in neonatal pulmonary hemorrhage and renal involvement. *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.* 93, 398–401.

Barcellini, W. (2015). New Insights in the Pathogenesis of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus. Med. Hemotherapy* 42, 287–293.

Barsotti, S., Terenzi, R., La Paglia, G.M.C., Bellucci, E., Baldini, C., and Neri, R. (2015). One year in review 2015: idiopathic inflammatory myopathies. *Clin. Exp. Rheumatol.* 33, 593–601.

Basnayake, S.K., Blumbergs, P., Tan, J.A., Roberts-Thompson, P.J., and Limaye, V. (2015). Inflammatory myopathy with anti-SRP antibodies: case series of a South Australian cohort. *Clin. Rheumatol.* 34, 603–608.

Bauer, K.A., Siegler, M., and Lindheimer, M.A. (1979). Polymyositis complicating pregnancy. *Arch. Intern. Med.* 139, 449.

Beilke, M.A., Traina-Dorge, V., England, J.D., and Blanchard, J.L. (1996). Polymyositis, arthritis, and uveitis in a macaque experimentally infected with human T lymphotropic virus type I. *Arthritis Rheum.* 39, 610–615.

Benveniste, O., and Romero, N.B. (2011). Myositis or dystrophy? Traps and pitfalls. *Presse Médicale* 40, e249–e255.

Benveniste, O., Dubourg, O., and Herson, S. (2007). Nouvelles classifications et physiopathologie des myopathies inflammatoires. *Rev. Médecine Interne* 28, 603–612.

Benveniste, O., Drouot, L., Jouen, F., Charuel, J.-L., Bloch-Queyrat, C., Behin, A., Amoura, Z., Marie, I., Guiguet, M., Eymard, B., et al. (2011). Correlation of anti-signal recognition particle autoantibody levels with creatine kinase activity in patients with necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum.* 63, 1961–1971.

Benveniste, O., Stenzel, W., Hilton-Jones, D., Sandri, M., Boyer, O., and van Engelen, B.G.M. (2015). Amyloid deposits and inflammatory infiltrates in sporadic inclusion body myositis: the inflammatory egg comes before the degenerative chicken. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 129, 611–624.

Benveniste, O., Stenzel, W., and Allenbach, Y. (2016). Advances in serological diagnostics of inflammatory myopathies. *Curr. Opin. Neurol.* 29, 662–673.

Betteridge, Z., Gunawardena, H., North, J., Slinn, J., and McHugh, N. (2007). Identification of a novel autoantibody directed against small ubiquitin-like modifier activating enzyme in dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 56, 3132–3137.

Betteridge, Z., Chinoy, H., Cooper, R.G., Lundberg, I.E., Vencovsky, J., Danko, K., and McHugh, N.J. (2016). Myositis-Specific Autoantibodies Rarely Coexist with Each Other: An Analysis of the Ukmynet and Eumynet Cohorts. *Rheumatology*.

Betteridge, Z.E., Gunawardena, H., Chinoy, H., North, J., Ollier, W.E.R., Cooper, R.G., McHugh, N.J., and for the UK Adult Onset Myositis Immunogenetic Collaboration (2009). Clinical and

human leucocyte antigen class II haplotype associations of autoantibodies to small ubiquitin-like modifier enzyme, a dermatomyositis-specific autoantigen target, in UK Caucasian adult-onset myositis. *Ann. Rheum. Dis.* 68, 1621–1625.

Blechynden, L.M., Lawson, M.A., Tabarias, H., Garlepp, M.J., Sherman, J., Raben, N., and Lawson, C.M. (1997). Myositis Induced by Naked DNA Immunization with the Gene for Histidyl-tRNA Synthetase. *Hum. Gene Ther.* 8, 1469–1480.

Bohan, A., and Peter, J.B. (1975b). Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* 292, 344–347.

Bohan, A., and Peter, J.B. (1975a). Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N. Engl. J. Med.* 292, 403–407.

Boncompagni, S., Moussa, C.E.-H., Levy, E., Pezone, M.J., Lopez, J.R., Protasi, F., and Shtifman, A. (2012). Mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of amyloid precursor protein-overexpressing mice. *J. Biol. Chem.* 287, 20534–20544.

Brancaccio, P., Maffulli, N., and Limongelli, F.M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* 81–82, 209–230.

Briet, C., Bourdenet, G., Rogner, U.C., Becourt, C., Tardivel, I., Drouot, L., Arnoult, C., do Rego, J.-C., Prevot, N., Massaad, C., et al. (2017). The Spontaneous Autoimmune Neuromyopathy in ICOSL(-/-) NOD Mice Is CD4(+) T-Cell and Interferon- γ Dependent. *Front. Immunol.* 8, 287.

Bronner, I.M., Hoogendijk, J.E., Wintzen, A.R., van der Meulen, M.F.G., Linssen, W.H.J.P., Wokke, J.H.J., and de Visser, M. (2003). Necrotising myopathy, an unusual presentation of a steroid-responsive myopathy. *J. Neurol.* 250, 480–485.

Brouwer, R., Hengstman, G.J., Vree Egberts, W., Ehrfeld, H., Bozic, B., Ghirardello, A., Grøndal, G., Hietarinta, M., Isenberg, D., Kalden, J.R., et al. (2001). Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. *Ann. Rheum. Dis.* 60, 116–123.

de Bruin, T.W., and van der Heide, D. (1984). Anti-TSH receptor antibodies in Graves' disease modulate the kinetic behaviour of autologous thyroid TSH receptors. Evidence of the IgG-induced cross-linkage of autologous TSH receptors. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 105, 330–340.

Burman, P., Mårdh, S., Norberg, L., and Karlsson, F.A. (1989). Parietal cell antibodies in pernicious anemia inhibit H⁺, K⁺-adenosine triphosphatase, the proton pump of the stomach. *Gastroenterology* 96, 1434–1438.

Cantwell, C., Ryan, M., O'Connell, M., Cunningham, P., Brennan, D., Costigan, D., Lynch, T., and Eustace, S. (2005). A comparison of inflammatory myopathies at whole-body turbo STIR MRI. *Clin. Radiol.* 60, 261–267.

Carpenter, S., Karpati, G., Heller, I., and Eisen, A. (1978). Inclusion body myositis: a distinct variety of idiopathic inflammatory myopathy. *Neurology* 28, 8–17.

Casciola-Rosen, L., Nagaraju, K., Plotz, P., Wang, K., Levine, S., Gabrielson, E., Corse, A., and Rosen, A. (2005). Enhanced autoantigen expression in regenerating muscle cells in idiopathic inflammatory myopathy. *J. Exp. Med.* *201*, 591–601.

Casciola-Rosen, L.A., Pluta, A.F., Plotz, P.H., Cox, A.E., Morris, S., Wigley, F.M., Petri, M., Gelber, A.C., and Rosen, A. (2001). The DNA mismatch repair enzyme PMS1 is a myositis-specific autoantigen. *Arthritis Rheum.* *44*, 389–396.

Castro, C., and Gourley, M. (2012). Diagnosis and treatment of inflammatory myopathy: issues and management. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* *4*, 111–120.

Catrina, A.I., Joshua, V., Klareskog, L., and Malmström, V. (2016). Mechanisms involved in triggering rheumatoid arthritis. *Immunol. Rev.* *269*, 162–174.

Cavazzana, I., Fredi, M., Taraborelli, M., Quinzanini, M., Tincani, A., and Franceschini, F. (2013). A subset of systemic sclerosis but not of systemic lupus erythematosus is defined by isolated anti-Ku autoantibodies. *Clin. Exp. Rheumatol.* *31*, 118–121.

Ceribelli, A., Andreoli, L., Cavazzana, I., Franceschini, F., Radice, A., Rimoldi, L., Sinico, R.A., Carlsson, M., Wieslander, J., and Tincani, A. (2009). Complement Cascade in Systemic Lupus Erythematosus: Analyses of the Three Activation Pathways. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1173*, 427–434.

Ceribelli, A., Fredi, M., Taraborelli, M., Cavazzana, I., Franceschini, F., Quinzanini, M., Tincani, A., Ross, S.J., Chan, J.Y.F., Pauley, B.A., et al. (2012). Anti-MJ/NXP-2 autoantibody specificity in a cohort of adult Italian patients with polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis Res. Ther.* *14*, R97.

Ceribelli, A., Isailovic, N., De Santis, M., Generali, E., Fredi, M., Cavazzana, I., Franceschini, F., Cantarini, L., Satoh, M., and Selmi, C. (2016). Myositis-specific autoantibodies and their association with malignancy in Italian patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clin. Rheumatol.*

Chazaud, B., Brigitte, M., Yacoub-Youssef, H., Arnold, L., Gherardi, R., Sonnet, C., Lafuste, P., and Chretien, F. (2009). Dual and Beneficial Roles of Macrophages During Skeletal Muscle Regeneration: *Exerc. Sport Sci. Rev.* *37*, 18–22.

Chen, X., Ghribi, O., and Geiger, J.D. (2008). Rabbits fed cholesterol-enriched diets exhibit pathological features of inclusion body myositis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *294*, R829–835.

Chinoy, H., Platt, H., Lamb, J.A., Betteridge, Z., Gunawardena, H., Fertig, N., Varsani, H., Davidson, J., Oddis, C.V., McHugh, N.J., et al. (2008). The protein tyrosine phosphatase N22 gene is associated with juvenile and adult idiopathic inflammatory myopathy independent of the HLA 8.1 haplotype in British Caucasian patients. *Arthritis Rheum.* *58*, 3247–3254.

Chinoy, H., Payne, D., Poulton, K.V., Fertig, N., Betteridge, Z., Gunawardena, H., Davidson, J.E., Oddis, C.V., McHugh, N.J., Wedderburn, L.R., et al. (2009). HLA-DPB1 associations differ

between DRB1*03 positive anti-Jo-1 and anti-PM-Scl antibody positive idiopathic inflammatory myopathy. *Rheumatology* 48, 1213–1217.

Chiriac, M.T., Licarete, E., Sas, A.G., Rados, A.M., Lupan, I., Chiriac, A.M., Speth, H., Pop-Vancia, V., Domsa, I., Sesarman, A., et al. (2013). Passive transfer of collagen XVII-specific antibodies induces sustained blistering disease in adult mice. *Orphanet J. Rare Dis.* 8, 17.

Christopher-Stine, L., Casciola-Rosen, L.A., Hong, G., Chung, T., Corse, A.M., and Mammen, A.L. (2010). A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum.* 62, 2757–2766.

Chung, T., Christopher-Stine, L., Paik, J.J., Corse, A., and Mammen, A.L. (2015). The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve.*

Ciavatta, D.J., Yang, J., Preston, G.A., Badhwar, A.K., Xiao, H., Hewins, P., Nester, C.M., Pendergraft, W.F., Magnuson, T.R., Jennette, J.C., et al. (2010). Epigenetic basis for aberrant upregulation of autoantigen genes in humans with ANCA vasculitis. *J. Clin. Invest.* 120, 3209–3219.

Ciciliot, S., and Schiaffino, S. (2010). Regeneration of mammalian skeletal muscle. Basic mechanisms and clinical implications. *Curr. Pharm. Des.* 16, 906–914.

Civatte, M., Schleinitz, N., Krammer, P., Fernandez, C., Guis, S., Veit, V., Pouget, J., Harlé, J.-R., Pellissier, J.-F., and Figarella-Branger, D. (2003). Class I MHC detection as a diagnostic tool in noninformative muscle biopsies of patients suffering from dermatomyositis (DM). *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 29, 546–552.

Cohen Tervaert, J.W., and Damoiseaux, J. (2012). Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies: How Are They Detected and What Is Their Use for Diagnosis, Classification and Follow-up? *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 43, 211–219.

Cole, R.N., Reddel, S.W., Gervasio, O.L., and Phillips, W.D. (2008). Anti-MuSK patient antibodies disrupt the mouse neuromuscular junction. *Ann. Neurol.* 63, 782–789.

Crickx, E., Machelart, I., Lazaro, E., Kahn, J.-E., Cohen-Aubart, F., Martin, T., Mania, A., Hatron, P.-Y., Hayem, G., Blanchard-Delaunay, C., et al. (2016). Intravenous Immunoglobulin as an Immunomodulating Agent in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitides: A French Nationwide Study of Ninety-Two Patients: IVIG FOR THE TREATMENT OF AAV. *Arthritis Rheumatol.* 68, 702–712.

Cruellas, M., Viana, V., Levy-Neto, M., Souza, F., and Shinjo, S. (2013). Myositis-specific and myositis-associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clinics* 68, 909–914.

Csernok, E., Ernst, M., Schmitt, W., Bainton, D.F., and Gross, W.L. (1994). Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin. Exp. Immunol.* 95, 244–250.

- Csorba, K., Chiriac, M.T., Florea, F., Ghinia, M.G., Licarete, E., Rados, A., Sas, A., Vuta, V., and Sitaru, C. (2014). Blister-inducing antibodies target multiple epitopes on collagen VII in mice. *J. Cell. Mol. Med.* *18*, 1727–1739.
- Curiel, R.V., Jones, R., and Brindle, K. (2009). Magnetic Resonance Imaging of the Idiopathic Inflammatory Myopathies: Structural and Clinical Aspects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1154*, 101–114.
- Dagenais, A., Bibor-Hardy, V., and Senécal, J.L. (1988). A novel autoantibody causing a peripheral fluorescent antinuclear antibody pattern is specific for nuclear pore complexes. *Arthritis Rheum.* *31*, 1322–1327.
- Daikeler, T., Kistler, A., Martin, P., Vogt, B., and Huynh-Do, U. (2015). The role of rituximab in the treatment of ANCA-associated vasculitides (AAV). *Swiss Med. Wkly.*
- Dalakas, M.C. (1991). Polymyositis, dermatomyositis and inclusion-body myositis. *N. Engl. J. Med.* *325*, 1487–1498.
- Dalakas, M.C. (2004). From canine to man: on antibodies, macrophages, and dendritic cells in inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* *29*, 753–755.
- Dalakas, M.C. (2011). Review: An update on inflammatory and autoimmune myopathies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* *37*, 226–242.
- Dalakas, M.C. (2015). Inflammatory muscle diseases. *N. Engl. J. Med.* *372*, 1734–1747.
- Dalakas, M.C., and Hohlfeld, R. (2003). Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet Lond. Engl.* *362*, 971–982.
- Dana Mandel, Charles Malemud, and Ali Askari (2017). Idiopathic Inflammatory Myopathies: A Review of the Classification and Impact of Pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* *18*, 1084.
- Davies, K.A., Peters, A.M., Beynon, H.L., and Walport, M.J. (1992). Immune complex processing in patients with systemic lupus erythematosus. In vivo imaging and clearance studies. *J. Clin. Invest.* *90*, 2075–2083.
- Dawkins, R.L. (1965). Experimental myositis associated with hypersensitivity to muscle. *J. Pathol. Bacteriol.* *90*, 619–625.
- Day, J., Patel, S., and Limaye, V. (2016). The role of magnetic resonance imaging techniques in evaluation and management of the idiopathic inflammatory myopathies. *Semin. Arthritis Rheum.*
- Day, J., Otto, S., Proudman, S., Hayball, J.D., and Limaye, V. (2017). Dysregulated innate immune function in the aetiopathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmun. Rev.* *16*, 87–95.
- De Visser, M., Emslie-Smith, A.M., and Engel, A.G. (1989). Early ultrastructural alterations in adult dermatomyositis. Capillary abnormalities precede other structural changes in muscle. *J. Neurol. Sci.* *94*, 181–192.

- Defendenti, C., Atzeni, F., Spina, M.F., Grosso, S., Cereda, A., Guercilena, G., Bollani, S., Saibeni, S., and Puttini, P.S. (2011). Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun. Rev.* 10, 150–154.
- Dekkers, J.S., Verheul, M.K., Stoop, J.N., Liu, B., Ioan-Facsinay, A., van Veelen, P.A., de Ru, A.H., Janssen, G.M.C., Hegen, M., Rapecki, S., et al. (2017). Breach of autoreactive B cell tolerance by post-translationally modified proteins. *Ann. Rheum. Dis.* 76, 1449–1457.
- Dema, B., and Charles, N. (2016). Autoantibodies in SLE: Specificities, Isotypes and Receptors. *Antibodies* 5, 2.
- Dema, B., Pellefigues, C., Hasni, S., Gault, N., Jiang, C., Ricks, T.K., Bonelli, M.M., Scheffel, J., Sacré, K., Jablonski, M., et al. (2014). Autoreactive IgE Is Prevalent in Systemic Lupus Erythematosus and Is Associated with Increased Disease Activity and Nephritis. *PLoS ONE* 9, e90424.
- Deng, S.X. (2000). In vivo cell penetration and intracellular transport of anti-Sm and anti-La autoantibodies. *Int. Immunol.* 12, 415–423.
- Deng, J.-S., Ballou, B., and Hofmeister, J.K. (1996). Internalization of anti-nucleolin antibody into viable HEp-2 cells. *Mol. Biol. Rep.* 23, 191–195.
- Dimitri, D., Andre, C., Roucoules, J., Hosseini, H., Humbel, R.-L., and Authier, F.-J. (2007). Myopathy associated with anti-signal recognition peptide antibodies: clinical heterogeneity contrasts with stereotyped histopathology. *Muscle Nerve* 35, 389–395.
- Drouot, L., Allenbach, Y., Jouen, F., Charuel, J.-L., Martinet, J., Meyer, A., Hirschberger, O., Bader-Meunier, B., Kone-Paut, I., Campana-Salort, E., et al. (2014). Exploring necrotizing autoimmune myopathies with a novel immunoassay for anti-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase autoantibodies. *Arthritis Res. Ther.* 16, R39.
- Dupont, S., Mamidi, A., Cordenonsi, M., Montagner, M., Zacchigna, L., Adorno, M., Martello, G., Stinchfield, M.J., Soligo, S., Morsut, L., et al. (2009). FAM/USP9x, a deubiquitinating enzyme essential for TGFβ signaling, controls Smad4 monoubiquitination. *Cell* 136, 123–135.
- Emslie-Smith, A.M., and Engel, A.G. (1990). Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann. Neurol.* 27, 343–356.
- Emslie-Smith, A.M., Arahata, K., and Engel, A.G. (1989). Major histocompatibility complex class I antigen expression, immunolocalization of interferon subtypes, and T cell-mediated cytotoxicity in myopathies. *Hum. Pathol.* 20, 224–231.
- Eriksson, C., Kokkonen, H., Johansson, M., Hallmans, G., Wadell, G., and Rantapää-Dahlqvist, S. (2011). Autoantibodies predate the onset of systemic lupus erythematosus in northern Sweden. *Arthritis Res. Ther.* 13, R30.
- Espada, G., Maldonado Cocco, J.A., Fertig, N., and Oddis, C.V. (2009). Clinical and serologic characterization of an Argentine pediatric myositis cohort: identification of a novel autoantibody (anti-MJ) to a 142-kDa protein. *J. Rheumatol.* 36, 2547–2551.

España, A., Diaz, L.A., Mascaró, J.M., Giudice, G.J., Fairley, J.A., Till, G.O., and Liu, Z. (1997). Mechanisms of acantholysis in pemphigus foliaceus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 85, 83–89.

Espy, C., Morelle, W., Kavian, N., Grange, P., Goulvestre, C., Viallon, V., Chéreau, C., Pagnoux, C., Michalski, J.-C., Guillevin, L., et al. (2011). Sialylation levels of anti-proteinase 3 antibodies are associated with the activity of granulomatosis with polyangiitis (Wegener's). *Arthritis Rheum.* 63, 2105–2115.

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285, 2486–2497.

Fenton, K. (2015). The effect of cell death in the initiation of lupus nephritis: Cell death and lupus nephritis. *Clin. Exp. Immunol.* 179, 11–16.

Feys, H.B., Roodt, J., Vandeputte, N., Pareyn, I., Lamprecht, S., van Rensburg, W.J., Anderson, P.J., Budde, U., Louw, V.J., Badenhorst, P.N., et al. (2010). Thrombotic thrombocytopenic purpura directly linked with ADAMTS13 inhibition in the baboon (*Papio ursinus*). *Blood* 116, 2005–2010.

Fiorentino, D., Chung, L., Zwerner, J., Rosen, A., and Casciola-Rosen, L. (2011). The mucocutaneous and systemic phenotype of dermatomyositis patients with antibodies to MDA5 (CADM-140): a retrospective study. *J. Am. Acad. Dermatol.* 65, 25–34.

Fiorentino, D.F., Chung, L.S., Christopher-Stine, L., Zaba, L., Li, S., Mammen, A.L., Rosen, A., and Casciola-Rosen, L. (2013). Most patients with cancer-associated dermatomyositis have antibodies to nuclear matrix protein NXP-2 or transcription intermediary factor 1 γ . *Arthritis Rheum.* 65, 2954–2962.

Fiorentino, D.F., Kuo, K., Chung, L., Zaba, L., Li, S., and Casciola-Rosen, L. (2015). Distinctive cutaneous and systemic features associated with antitranscriptional intermediary factor-1 γ antibodies in adults with dermatomyositis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 72, 449–455.

Floyd, J.S., Brody, J.A., Tiniakou, E., Psaty, B.M., and Mammen, A. (2016). Absence of anti-HMG-CoA reductase autoantibodies in severe self-limited statin-related myopathy: Short Report. *Muscle Nerve* 54, 142–144.

Fossati-Jimack, L., Reininger, L., Chicheportiche, Y., Clynes, R., Ravetch, J.V., Honjo, T., and Izui, S. (1999). High pathogenic potential of low-affinity autoantibodies in experimental autoimmune hemolytic anemia. *J. Exp. Med.* 190, 1689–1696.

Fossati-Jimack, L., Ioan-Facsinay, A., Reininger, L., Chicheportiche, Y., Watanabe, N., Saito, T., Hofhuis, F.M., Gessner, J.E., Schiller, C., Schmidt, R.E., et al. (2000). Markedly different pathogenicity of four immunoglobulin G isotype-switch variants of an antierythrocyte autoantibody is based on their capacity to interact in vivo with the low-affinity Fc γ receptor III. *J. Exp. Med.* 191, 1293–1302.

- Franceschini, F., Cavazzana, I., Generali, D., Quinzanini, M., Viardi, L., Ghirardello, A., Doria, A., and Cattaneo, R. (2002). Anti-Ku antibodies in connective tissue diseases: clinical and serological evaluation of 14 patients. *J. Rheumatol.* 29, 1393–1397.
- Frank, M.B., McCubbin, V., Trieu, E., Wu, Y., Isenberg, D.A., and Targoff, I.N. (1999). The association of anti-Ro52 autoantibodies with myositis and scleroderma autoantibodies. *J. Autoimmun.* 12, 137–142.
- Fregeau, D.R., Davis, P.A., Danner, D.J., Ansari, A., Coppel, R.L., Dickson, E.R., and Gershwin, M.E. (1989). Antimitochondrial antibodies of primary biliary cirrhosis recognize dihydrolipoamide acyltransferase and inhibit enzyme function of the branched chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 142, 3815–3820.
- Fréret, M., Drouot, L., Obry, A., Ahmed-Lacheheb, S., Daully, C., Adriouch, S., Cosette, P., Authier, F.-J., and Boyer, O. (2013). Overexpression of MHC class I in muscle of lymphocyte-deficient mice causes a severe myopathy with induction of the unfolded protein response. *Am. J. Pathol.* 183, 893–904.
- Friesen, J.A., and Rodwell, V.W. (2004). The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. *Genome Biol.* 5, 248.
- Fröhlich, E., and Wahl, R. (2017). Thyroid Autoimmunity: Role of Anti-thyroid Antibodies in Thyroid and Extra-Thyroidal Diseases. *Front. Immunol.* 8.
- Frontera, W.R., and Ochala, J. (2015). Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcif. Tissue Int.* 96, 183–195.
- Fudman, E.J., and Schnitzer, T.J. (1986). Dermatomyositis without creatine kinase elevation. A poor prognostic sign. *Am. J. Med.* 80, 329–332.
- Fujimoto, M., Hamaguchi, Y., Kaji, K., Matsushita, T., Ichimura, Y., Kodera, M., Ishiguro, N., Ueda-Hayakawa, I., Asano, Y., Ogawa, F., et al. (2012). Myositis-specific anti-155/140 autoantibodies target transcription intermediary factor 1 family proteins. *Arthritis Rheum.* 64, 513–522.
- Fujimoto, M., Matsushita, T., Hamaguchi, Y., Kaji, K., Asano, Y., Ogawa, F., Yamaoka, T., Fujikawa, K., Tsukada, T., Sato, K., et al. (2013). Autoantibodies to small ubiquitin-like modifier activating enzymes in Japanese patients with dermatomyositis: comparison with a UK Caucasian cohort. *Ann. Rheum. Dis.* 72, 151–153.
- Fujimoto, M., Murakami, A., Kurei, S., Okiyama, N., Kawakami, A., Mishima, M., Sato, S., Seishima, M., Suda, T., Mimori, T., et al. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of anti-transcriptional intermediary factor-1 gamma and anti-Mi-2 autoantibodies in dermatomyositis. *J. Dermatol. Sci.* 84, 272–281.
- Furst, D.E., Amato, A.A., Iorga, Ş.R., Gajria, K., and Fernandes, A.W. (2012). Epidemiology of adult idiopathic inflammatory myopathies in a U.S. managed care plan. *Muscle Nerve* 45, 676–683.

- Futaki, S., Suzuki, T., Ohashi, W., Yagami, T., Tanaka, S., Ueda, K., and Sugiura, Y. (2001). Arginine-rich Peptides: AN ABUNDANT SOURCE OF MEMBRANE-PERMEABLE PEPTIDES HAVING POTENTIAL AS CARRIERS FOR INTRACELLULAR PROTEIN DELIVERY. *J. Biol. Chem.* **276**, 5836–5840.
- Garel, B., Barète, S., Rigolet, A., Pelletier, F.L., Benveniste, O., and Hervier, B. (2015). Severe adult dermatomyositis with unusual calcinosis: Fig. 1. *Rheumatology* **54**, 2024–2024.
- Ge, Y., Lu, X., Peng, Q., Shu, X., and Wang, G. (2015). Clinical Characteristics of Anti-3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Antibodies in Chinese Patients with Idiopathic Inflammatory Myopathies. *PLOS ONE* **10**, e0141616.
- Gelpí, C., Kanterewicz, E., Gratacos, J., Targoff, I.N., and Rodríguez-Sánchez, J.L. (1996). Coexistence of two antisynthetases in a patient with the antisynthetase syndrome. *Arthritis Rheum.* **39**, 692–697.
- Ghirardello, A., Zampieri, S., Tarricone, E., Iaccarino, L., Bendo, R., Briani, C., Rondinone, R., Sarzi-Puttini, P., Todesco, S., and Doria, A. (2006). Clinical implications of autoantibody screening in patients with autoimmune myositis. *Autoimmunity* **39**, 217–221.
- Ghirardello, A., Bassi, N., Palma, L., Borella, E., Domeneghetti, M., Punzi, L., and Doria, A. (2013). Autoantibodies in Polymyositis and Dermatomyositis. *Curr. Rheumatol. Rep.* **15**.
- Ghirardello, A., Borella, E., Beggio, M., Franceschini, F., Fredi, M., and Doria, A. (2014). Myositis autoantibodies and clinical phenotypes. *Auto- Immun. Highlights* **5**, 69–75.
- Gitiaux, C., Kostallari, E., Lafuste, P., Authier, F.-J., Christov, C., and Gherardi, R.K. (2013). Whole microvascular unit deletions in dermatomyositis. *Ann. Rheum. Dis.* **72**, 445–452.
- Giudice, G.J., Emery, D.J., Zelickson, B.D., Anhalt, G.J., Liu, Z., and Diaz, L.A. (1993). Bullous pemphigoid and herpes gestationis autoantibodies recognize a common non-collagenous site on the BP180 ectodomain. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **151**, 5742–5750.
- Gono, T., Kawaguchi, Y., Kuwana, M., Sugiura, T., Furuya, T., Takagi, K., Ichida, H., Katsumata, Y., Hanaoka, M., Ota, Y., et al. (2012a). Brief report: Association of HLA-DRB1*0101/*0405 with susceptibility to anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody-positive dermatomyositis in the Japanese population. *Arthritis Rheum.* **64**, 3736–3740.
- Gono, T., Sato, S., Kawaguchi, Y., Kuwana, M., Hanaoka, M., Katsumata, Y., Takagi, K., Baba, S., Okamoto, Y., Ota, Y., et al. (2012b). Anti-MDA5 antibody, ferritin and IL-18 are useful for the evaluation of response to treatment in interstitial lung disease with anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis. *Rheumatol. Oxf. Engl.* **51**, 1563–1570.
- Grable-Esposito, P., Katzberg, H.D., Greenberg, S.A., Srinivasan, J., Katz, J., and Amato, A.A. (2010). Immune-mediated necrotizing myopathy associated with statins. *Muscle Nerve* **41**, 185–190.
- Greenberg, S.A. (2014). Cytoplasmic 5'-nucleotidase autoantibodies in inclusion body myositis: Isotypes and diagnostic utility. *Muscle Nerve* **50**, 488–492.

- Greenberg, S.A., Pinkus, J.L., Pinkus, G.S., Burleson, T., Sanoudou, D., Tawil, R., Barohn, R.J., Saperstein, D.S., Briemberg, H.R., Ericsson, M., et al. (2005). Interferon-alpha/beta-mediated innate immune mechanisms in dermatomyositis. *Ann. Neurol.* *57*, 664–678.
- Greenlee, J.E., Burns, J.B., Rose, J.W., Jaeckle, K.A., and Clawson, S. (1995). Uptake of systemically administered human anticerebellar antibody by rat Purkinje cells following blood-brain barrier disruption. *Acta Neuropathol. (Berl.)* *89*, 341–345.
- Greenlee, J.E., Clawson, S.A., Hill, K.E., Wood, B., Clardy, S.L., Tsunoda, I., and Carlson, N.G. (2015). Anti-Yo antibody uptake and interaction with its intracellular target antigen causes Purkinje cell death in rat cerebellar slice cultures: a possible mechanism for paraneoplastic cerebellar degeneration in humans with gynecological or breast cancers. *PloS One* *10*, e0123446.
- Griffin, G.E., and Goldspink, G. (1973). The increase in skeletal muscle mass in male and female mice. *Anat. Rec.* *177*, 465–469.
- Griggs, R.C., Askanas, V., DiMauro, S., Engel, A., Karpati, G., Mendell, J.R., and Rowland, L.P. (1995). Inclusion body myositis and myopathies. *Ann. Neurol.* *38*, 705–713.
- Grumach, A.S., Ceccon, M.E., Rutz, R., Fertig, A., and Kirschfink, M. (2014). Complement Profile in Neonates of Different Gestational Ages. *Scand. J. Immunol.* *79*, 276–281.
- Guéant, J.L., Safi, A., Aimone-Gastin, I., Rabesona, H., Bronowicki, J.P., Plénat, F., Bigard, M.A., and Haertlé, T. (1997). Autoantibodies in pernicious anemia type I patients recognize sequence 251-256 in human intrinsic factor. *Proc. Assoc. Am. Physicians* *109*, 462–469.
- Guilliams, M., Bruhns, P., Saeys, Y., Hammad, H., and Lambrecht, B.N. (2014). The function of Fcγ receptors in dendritic cells and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* *14*, 94–108.
- Gunawardena, H., Wedderburn, L.R., Chinoy, H., Betteridge, Z.E., North, J., Ollier, W.E.R., Cooper, R.G., Oddis, C.V., Ramanan, A.V., Davidson, J.E., et al. (2009). Autoantibodies to a 140-kd protein in juvenile dermatomyositis are associated with calcinosis. *Arthritis Rheum.* *60*, 1807–1814.
- Gunde-Cimerman, N., and Cimerman, A. (1995). Pleurotus Fruiting Bodies Contain the Inhibitor of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase—Lovastatin. *Exp. Mycol.* *19*, 1–6.
- Gupta, R., Woodley, D.T., and Chen, M. (2012). Epidermolysis bullosa acquisita. *Clin. Dermatol.* *30*, 60–69.
- Gutiérrez, G., Dagnino, R., and Mintz, G. (1984). Polymyositis/dermatomyositis and pregnancy. *Arthritis Rheum.* *27*, 291–294.
- Hamaguchi, Y., Kuwana, M., Hoshino, K., Hasegawa, M., Kaji, K., Matsushita, T., Komura, K., Nakamura, M., Kodera, M., Suga, N., et al. (2011). Clinical correlations with dermatomyositis-specific autoantibodies in adult Japanese patients with dermatomyositis: a multicenter cross-sectional study. *Arch. Dermatol.* *147*, 391–398.

Hamaguchi, Y., Fujimoto, M., Matsushita, T., Kaji, K., Komura, K., Hasegawa, M., Koder, M., Muroi, E., Fujikawa, K., Seishima, M., et al. (2013). Common and Distinct Clinical Features in Adult Patients with Anti-Aminoacyl-tRNA Synthetase Antibodies: Heterogeneity within the Syndrome. *PLoS ONE* 8, e60442.

Hansen, J.E., Tse, C.-M., Chan, G., Heinze, E.R., Nishimura, R.N., and Weisbart, R.H. (2007). Intranuclear Protein Transduction through a Nucleoside Salvage Pathway. *J. Biol. Chem.* 282, 20790–20793.

Hargis, A.M., and Prieur, D.J. (1988). Animal models of polymyositis/dermatomyositis. *Clin. Dermatol.* 6, 120–129, 52–54.

Hargis, A.M., Haupt, K.H., Prieur, D.J., and Moore, M.P. (1985). Animal model of human disease. Dermatomyositis. Familial canine dermatomyositis. *Am. J. Pathol.* 120, 323–325.

Hartung, H.-P., Mouthon, L., Ahmed, R., Jordan, S., Laupland, K.B., and Jolles, S. (2009). Clinical applications of intravenous immunoglobulins (IVIg) - beyond immunodeficiencies and neurology. *Clin. Exp. Immunol.* 158, 23–33.

Hengstman, G.J.D., ter Laak, H.J., Vree Egberts, W.T.M., Lundberg, I.E., Moutsopoulos, H.M., Vencovsky, J., Doria, A., Mosca, M., van Venrooij, W.J., and van Engelen, B.G.M. (2006). Anti-signal recognition particle autoantibodies: marker of a necrotising myopathy. *Ann. Rheum. Dis.* 65, 1635–1638.

Herbert, M.K., Stammen-Vogelzangs, J., Verbeek, M.M., Rietveld, A., Lundberg, I.E., Chinoy, H., Lamb, J.A., Cooper, R.G., Roberts, M., Badrising, U.A., et al. (2016). Disease specificity of autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in sporadic inclusion body myositis versus known autoimmune diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 75, 696–701.

Hervier, B., Wallaert, B., Hachulla, E., Adoue, D., Lauque, D., Audrain, M., Camara, B., Fournie, B., Couret, B., Hatron, P.-Y., et al. (2010). Clinical manifestations of anti-synthetase syndrome positive for anti-alanyl-tRNA synthetase (anti-PL12) antibodies: a retrospective study of 17 cases. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 49, 972–976.

Hervier, B., Uzunhan, Y., Hachulla, E., Benveniste, O., Nunes, H., Delaval, P., Musset, L., Dubucquoi, S., Wallaert, B., and Hamidou, M. (2011). Antisynthetase syndrome positive for anti-threonyl-tRNA synthetase (anti-PL7) antibodies. *Eur. Respir. J.* 37, 714–717.

Hervier, B., Devilliers, H., Stanciu, R., Meyer, A., Uzunhan, Y., Masseau, A., Dubucquoi, S., Hatron, P.-Y., Musset, L., Wallaert, B., et al. (2012). Hierarchical cluster and survival analyses of antisynthetase syndrome: Phenotype and outcome are correlated with anti-tRNA synthetase antibody specificity. *Autoimmun. Rev.* 12, 210–217.

Hill, K.E., Clawson, S.A., Rose, J.W., Carlson, N.G., and Greenlee, J.E. (2009). Cerebellar Purkinje cells incorporate immunoglobulins and immunotoxins in vitro: implications for human neurological disease and immunotherapeutics. *J. Neuroinflammation* 6, 31.

Hilton-Jones, D., and Brady, S. (2016). Diagnostic criteria for inclusion body myositis. *J. Intern. Med.* 280, 52–62.

- Hochberg, M.C., Feldman, D., and Stevens, M.B. (1986). Adult onset polymyositis/dermatomyositis: an analysis of clinical and laboratory features and survival in 76 patients with a review of the literature. *Semin. Arthritis Rheum.* *15*, 168–178.
- Hofmann, S., Thoma-Uszynski, S., Hunziker, T., Bernard, P., Koebnick, C., Stauber, A., Schuler, G., Borradori, L., and Hertl, M. (2002). Severity and phenotype of bullous pemphigoid relate to autoantibody profile against the NH2- and COOH-terminal regions of the BP180 ectodomain. *J. Invest. Dermatol.* *119*, 1065–1073.
- Hoogendijk, J.E., Amato, A.A., Lecky, B.R., Choy, E.H., Lundberg, I.E., Rose, M.R., Vencovsky, J., de Visser, M., and Hughes, R.A. (2004). 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul. Disord.* *NMD 14*, 337–345.
- Hormigo, A., Ball, C., and Lieberman, F. (1996). Internalization of anti-Hu IgG is not Fc gamma receptor mediated. *Neurology* *47*, 607–609.
- Howard, O.M.Z., Dong, H.F., Yang, D., Raben, N., Nagaraju, K., Rosen, A., Casciola-Rosen, L., Härtlein, M., Kron, M., Yang, D., et al. (2002). Histidyl-tRNA synthetase and asparaginyl-tRNA synthetase, autoantigens in myositis, activate chemokine receptors on T lymphocytes and immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* *196*, 781–791.
- Huard, C., Gullà, S.V., Bennett, D.V., Coyle, A.J., Vleugels, R.A., and Greenberg, S.A. (2017). Correlation of cutaneous disease activity with type 1 interferon gene signature and interferon β in dermatomyositis. *Br. J. Dermatol.* *176*, 1224–1230.
- Hung, N.A., Jackson, C., Nicholson, M., and Highton, J. (2006). Pregnancy-related polymyositis and massive perivillous fibrin deposition in the placenta: are they pathogenetically related? *Arthritis Rheum.* *55*, 154–156.
- Iaccarino, L., Pegoraro, E., Bello, L., Bettio, S., Borella, E., Nalotto, L., Semplicini, C., Sorarù, G., Ghirardello, A., and Doria, A. (2014). Assessment of patients with idiopathic inflammatory myopathies and isolated creatin-kinase elevation. *Autoimmun. Highlights* *5*, 87–94.
- Ichimura, Y., Matsushita, T., Hamaguchi, Y., Kaji, K., Hasegawa, M., Tanino, Y., Inokoshi, Y., Kawai, K., Kanekura, T., Habuchi, M., et al. (2012). Anti-NXP2 autoantibodies in adult patients with idiopathic inflammatory myopathies: possible association with malignancy. *Ann. Rheum. Dis.* *71*, 710–713.
- Ikeda, N., Takahashi, K., Yamaguchi, Y., Inasaka, M., Kuwana, M., and Ikezawa, Z. (2011). Analysis of dermatomyositis-specific autoantibodies and clinical characteristics in Japanese patients. *J. Dermatol.* *38*, 973–979.
- Im, S.-R., Im, S.-W., Chung, H.-Y., Pravinsagar, P., and Jang, Y.-J. (2015). Cell- and nuclear-penetrating anti-dsDNA autoantibodies have multiple arginines in CDR3 of VH and increase cellular level of pERK and Bcl-2 in mesangial cells. *Mol. Immunol.* *67*, 377–387.

Isenberg, D.A., Dudeney, C., Williams, W., Todd-Pokropek, A., and Stollar, B. (1988). Disease activity in systemic lupus erythematosus related to a range of antibodies binding DNA and synthetic polynucleotides. *Ann. Rheum. Dis.* 717–724.

Istvan, E.S., Palnitkar, M., Buchanan, S.K., and Deisenhofer, J. (2000). Crystal structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase: insights into regulation of activity and catalysis. *EMBO J.* 19, 819–830.

Jo, Y., and DeBose-Boyd, R.A. (2010). Control of cholesterol synthesis through regulated ER-associated degradation of HMG CoA reductase. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 45, 185–198.

Joly, B.S., Coppo, P., and Veyradier, A. (2017). Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 129, 2836–2846.

Jones, C.C., Hamilton, R.G., and Jordon, R.E. (1988). Subclass distribution of human IgG autoantibodies in pemphigus. *J. Clin. Immunol.* 8, 43–49.

Jonsson, R. (2013). Autoantibodies Present Before Symptom Onset in Primary Sjögren Syndrome. *JAMA* 310, 1854.

Kaji, K., Fujimoto, M., Hasegawa, M., Kondo, M., Saito, Y., Komura, K., Matsushita, T., Orito, H., Hamaguchi, Y., Yanaba, K., et al. (2007). Identification of a novel autoantibody reactive with 155 and 140 kDa nuclear proteins in patients with dermatomyositis: an association with malignancy. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 46, 25–28.

Kalaaji, M., Fenton, K.-A., Mortensen, E.-S., Olsen, R., Sturfelt, G., Alm, P., and Rekvig, O.-P. (2007). Glomerular apoptotic nucleosomes are central target structures for nephritogenic antibodies in human SLE nephritis. *Kidney Int.* 71, 664–672.

Kalluri, M., Sahn, S.A., Oddis, C.V., Gharib, S.L., Christopher-Stine, L., Danoff, S.K., Casciola-Rosen, L., Hong, G., Dellaripa, P.F., and Highland, K.B. (2009). Clinical profile of anti-PL-12 autoantibody. Cohort study and review of the literature. *Chest* 135, 1550–1556.

Kanoh, H., Izumi, T., Seishima, M., Nojiri, M., Ichiki, Y., and Kitajima, Y. (1999). A case of dermatomyositis that developed after delivery: the involvement of pregnancy in the induction of dermatomyositis. *Br. J. Dermatol.* 141, 897–900.

Kao, A.H., Lacomis, D., Lucas, M., Fertig, N., and Oddis, C.V. (2004). Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* 50, 209–215.

Karlsson, F.A., Burman, P., Lööf, L., and Mårdh, S. (1988). Major parietal cell antigen in autoimmune gastritis with pernicious anemia is the acid-producing H⁺,K⁺-adenosine triphosphatase of the stomach. *J. Clin. Invest.* 81, 475–479.

Kassardjian, C.D., Lennon, V.A., Alfugham, N.B., Mahler, M., and Milone, M. (2015). Clinical Features and Treatment Outcomes of Necrotizing Autoimmune Myopathy. *JAMA Neurol.*

Katsumata, Y., Ridgway, W.M., Oriss, T., Gu, X., Chin, D., Wu, Y., Fertig, N., Oury, T., Vandersteen, D., Clemens, P., et al. (2007). Species-specific immune responses generated by

histidyl-tRNA synthetase immunization are associated with muscle and lung inflammation. *J. Autoimmun.* 29, 174–186.

Kawabata, T., Komaki, H., Saito, T., Saito, Y., Nakagawa, E., Sugai, K., Sasaki, M., Hayashi, Y.K., Nishino, I., Momomura, M., et al. (2012). A pediatric patient with myopathy associated with antibodies to a signal recognition particle. *Brain Dev.* 34, 877–880.

Kawasaki, H., Tsunoda, K., Hata, T., Ishii, K., Yamada, T., and Amagai, M. (2006). Synergistic pathogenic effects of combined mouse monoclonal anti-desmoglein 3 IgG antibodies on pemphigus vulgaris blister formation. *J. Invest. Dermatol.* 126, 2621–2630.

Keating, P., Young, J., George, P., Florkowski, C., Spellerberg, M., and Kennedy, N. (2017). Anti-HMGCR autoantibodies in self-limiting statin-induced myopathy. *Int. J. Rheum. Dis.*

Kennedy, N., Keating, P., and O'Donnell, J. (2016). HMGCR-associated myositis: a New Zealand case series and estimate of incidence: Brief Communications. *Intern. Med. J.* 46, 622–625.

Kishi, T., Rider, L.G., Pak, K., Barillas-Arias, L., Henrickson, M., McCarthy, P.L., Shaham, B., Weiss, P.F., Horkayne-Szakaly, I., Targoff, I.N., et al. (2017). Anti-3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase Autoantibodies are Associated with DRB1*07:01 and Severe Myositis in Pediatric Myositis Patients: HMGCR autoantibodies in juvenile myositis. *Arthritis Care Res.*

Klein, M., Mann, H., Pleštilová, L., Zámečník, J., Betteridge, Z., McHugh, N., and Vencovský, J. (2015). Increasing incidence of immune-mediated necrotizing myopathy: single-centre experience. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 54, 2010–2014.

Kobayashi, I., Okura, Y., Yamada, M., Kawamura, N., Kuwana, M., and Ariga, T. (2011). Anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody is a diagnostic and predictive marker for interstitial lung diseases associated with juvenile dermatomyositis. *J. Pediatr.* 158, 675–677.

Kobayashi, K., Izawa, T., Kuwamura, M., and Yamate, J. (2012). Dysferlin and Animal Models for Dysferlinopathy. *J. Toxicol. Pathol.* 25, 135–147.

Koenig, M., Fritzler, M.J., Targoff, I.N., Troyanov, Y., and Senécal, J.-L. (2007). Heterogeneity of autoantibodies in 100 patients with autoimmune myositis: insights into clinical features and outcomes. *Arthritis Res. Ther.* 9, R78.

Kohyama, K., and Matsumoto, Y. (1999). C-protein in the skeletal muscle induces severe autoimmune polymyositis in Lewis rats. *J. Neuroimmunol.* 98, 130–135.

Kojima, T., Tanuma, N., Aikawa, Y., Shin, T., Sasaki, A., and Matsumoto, Y. (1997). Myosin-induced autoimmune polymyositis in the rat. *J. Neurol. Sci.* 151, 141–148.

Komura, K., Fujimoto, M., Matsushita, T., Kaji, K., Kondo, M., Hirano, T., Orito, H., Horikawa, M., Hamaguchi, Y., Hasegawa, M., et al. (2005). Prevalence and clinical characteristics of anti-Mi-2 antibodies in Japanese patients with dermatomyositis. *J. Dermatol. Sci.* 40, 215–217.

- Koscec, M., Koren, E., Wolfson-Reichlin, M., Fugate, R.D., Trieu, E., Targoff, I.N., and Reichlin, M. (1997). Autoantibodies to ribosomal P proteins penetrate into live hepatocytes and cause cellular dysfunction in culture. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 159, 2033–2041.
- Kotimaa, J., Klar-Mohammad, N., Gueler, F., Schilders, G., Jansen, A., Rutjes, H., Daha, M.R., and van Kooten, C. (2016). Sex matters: Systemic complement activity of female C57BL/6J and BALB/cJ mice is limited by serum terminal pathway components. *Mol. Immunol.* 76, 13–21.
- Kramp, S.L., Karayev, D., Shen, G., Metzger, A.L., Morris, R.I., Karayev, E., Lam, Y., Kazdan, R.M., Pruijn, G.J.M., Saschenbrecker, S., et al. (2016). Development and evaluation of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against cN-1A (Mup44, NT5C1A) in sporadic inclusion body myositis. *Auto- Immun. Highlights* 7, 16.
- Kremer Hovinga, J.A., Coppo, P., Lämmle, B., Moake, J.L., Miyata, T., and Vanhoorelbeke, K. (2017). Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat. Rev. Dis. Primer* 3, 17020.
- Kusner, L.L., Losen, M., Vincent, A., Lindstrom, J., Tzartos, S., Lazaridis, K., and Martinez-Martinez, P. (2015). Guidelines for pre-clinical assessment of the acetylcholine receptor-specific passive transfer myasthenia gravis model—Recommendations for methods and experimental designs. *Exp. Neurol.* 270, 3–10.
- La Corte, R., Lo Mo Naco, A., Locaputo, A., Dolzani, F., and Trotta, F. (2006). In patients with antisynthetase syndrome the occurrence of anti-Ro/SSA antibodies causes a more severe interstitial lung disease. *Autoimmunity* 39, 249–253.
- Labirua-Iturburu, A., Selva-O’Callaghan, A., Vincze, M., Dankó, K., Vencovsky, J., Fisher, B., Charles, P., Dastmalchi, M., and Lundberg, I.E. (2012). Anti-PL-7 (Anti-Threonyl-tRNA Synthetase) Antisynthetase Syndrome: Clinical Manifestations in a Series of Patients From a European Multicenter Study (EUMYONET) and Review of the Literature. *Medicine (Baltimore)* 91, 206–211.
- Labrador-Horrillo, M., Martinez, M.A., Selva-O’Callaghan, A., Trallero-Araguas, E., Balada, E., Vilardell-Tarres, M., and Juárez, C. (2014). Anti-MDA5 antibodies in a large Mediterranean population of adults with dermatomyositis. *J. Immunol. Res.* 2014, 290797.
- Lambole, C.R., Murphy, R.M., McKenna, M.J., and Lamb, G.D. (2014). Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and leak properties, and SERCA isoform expression, in type I and type II fibres of human skeletal muscle: SR Ca^{2+} uptake in human skeletal muscle fibres. *J. Physiol.* 592, 1381–1395.
- Larman, H.B., Salajegheh, M., Nazareno, R., Lam, T., Sauld, J., Steen, H., Kong, S.W., Pinkus, J.L., Amato, A.A., Elledge, S.J., et al. (2013). Cytosolic 5′-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. *Ann. Neurol.* 73, 408–418.
- Lassiter, H.A., Watson, S.W., Seifring, M.L., and Tanner, J.E. (1992). Complement factor 9 deficiency in serum of human neonates. *J. Infect. Dis.* 166, 53–57.

Lee, E.-J., Jang, E.-J., Lee, E., Yu, J., Chung, H.Y., and Jang, Y.-J. (2007). Cell-penetrating autoantibody induces caspase-mediated apoptosis through catalytic hydrolysis of DNA. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 2016–2023.

Leff, R.L., Burgess, S.H., Miller, F.W., Love, L.A., Targoff, I.N., Dalakas, M.C., Joffe, M.M., and Plotz, P.H. (1991). Distinct seasonal patterns in the onset of adult idiopathic inflammatory myopathy in patients with anti-Jo-1 and anti-signal recognition particle autoantibodies. *Arthritis Rheum.* 34, 1391–1396.

Lega, J.-C., Cottin, V., Fabien, N., Thivolet-Béjui, F., and Cordier, J.-F. (2010). Interstitial lung disease associated with anti-PM/Scl or anti-aminoacyl-tRNA synthetase autoantibodies: a similar condition? *J. Rheumatol.* 37, 1000–1009.

Lega, J.-C., Fabien, N., Reynaud, Q., Durieu, I., Durupt, S., Dutertre, M., Cordier, J.-F., and Cottin, V. (2014). The clinical phenotype associated with myositis-specific and associated autoantibodies: A meta-analysis revisiting the so-called antisynthetase syndrome. *Autoimmun. Rev.* 13, 883–891.

Leverenz, D., Zaha, O., Crofford, L.J., and Chung, C.P. (2016). Causes of creatine kinase levels greater than 1000 IU/L in patients referred to rheumatology. *Clin. Rheumatol.* 35, 1541–1547.

Li, Y.-G., Zhang, F., Wang, Z.-T., and Hu, Z.-B. (2004). Identification and chemical profiling of monacolins in red yeast rice using high-performance liquid chromatography with photodiode array detector and mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35, 1101–1112.

Liang, W.-C., Uruha, A., Suzuki, S., Murakami, N., Takeshita, E., Chen, W.-Z., Jong, Y.-J., Endo, Y., Komaki, H., Fujii, T., et al. (2016). Pediatric necrotizing myopathy associated with anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase antibodies. *Rheumatology* kew386.

Limaye, V., Bundell, C., Hollingsworth, P., Rojana-Udomsart, A., Mastaglia, F., Blumbergs, P., and Lester, S. (2014). Clinical and genetic associations of autoantibodies to 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme a reductase in patients with immune-mediated myositis and necrotizing myopathy. *Muscle Nerve*.

Lin, L., Betsuyaku, T., Heimbach, L., Li, N., Rubenstein, D., Shapiro, S.D., An, L., Giudice, G.J., Diaz, L.A., Senior, R.M., et al. (2012). Neutrophil elastase cleaves the murine hemidesmosomal protein BP180/type XVII collagen and generates degradation products that modulate experimental bullous pemphigoid. *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.* 31, 38–44.

Lisi, S., Sisto, M., Soleti, R., Saponaro, C., Scagliusi, P., D'Amore, M., Saccia, M., Maffione, A.B., and Mitolo, V. (2007). Fcγ receptors mediate internalization of anti-Ro and anti-La autoantibodies from Sjögren's syndrome and apoptosis in human salivary gland cell line A-253. *J. Oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* 36, 511–523.

Lisi, S., D'Amore, M., Lofrumento, D., Mitolo, V., Frassanito, M.A., Dammacco, F., Scagliusi, P., and Sisto, M. (2008). Modulation of the Fcγ receptors induced by anti-Ro and anti-La autoantibodies: observations in salivary gland cells. *Rheumatol. Int.* 28, 943–948.

- Little, M.A., Al-Ani, B., Ren, S., Al-Nuaimi, H., Leite, M., Alpers, C.E., Savage, C.O., and Duffield, J.S. (2012). Anti-proteinase 3 anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies recapitulate systemic vasculitis in mice with a humanized immune system. *PloS One* 7, e28626.
- Llerena, J.M., Ruíz-Argüelles, A., Alarcón-Segovia, D., Llorente, L., and Díaz-Jouanen, E. (1981). Antibody penetration into living cells. V. Interference between two fc gamma receptor-mediated functions: antibody penetration and antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Immunology* 43, 249–254.
- Love, L.A., Leff, R.L., Fraser, D.D., Targoff, I.N., Dalakas, M., Plotz, P.H., and Miller, F.W. (1991). A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore)* 70, 360–374.
- Ma, J., King, N., Chen, S.L., Penny, R., and Breit, S.N. (1993). Antibody penetration of viable human cells. II. Anti-RNP antibodies binding to RNP antigen expressed on cell surface, which may mediate the antibody internalization. *Clin. Exp. Immunol.* 93, 396–404.
- Magorivska, I., Muñoz, L.E., Janko, C., Dumych, T., Rech, J., Schett, G., Nimmerjahn, F., Bilyy, R., and Herrmann, M. (2016). Sialylation of anti-histone immunoglobulin G autoantibodies determines their capabilities to participate in the clearance of late apoptotic cells: Pathogenic asialo anti-histone auto-IgG. *Clin. Exp. Immunol.* 184, 110–117.
- Mahler, M., and Raijmakers, R. (2007). Novel aspects of autoantibodies to the PM/Sci complex: Clinical, genetic and diagnostic insights. *Autoimmun. Rev.* 6, 432–437.
- Mahler, M., Miller, F.W., and Fritzler, M.J. (2014). Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: A comprehensive review. *Autoimmun. Rev.* 13, 367–371.
- Malik, A., Hayat, G., Kalia, J.S., and Guzman, M.A. (2016). Idiopathic Inflammatory Myopathies: Clinical Approach and Management. *Front. Neurol.* 7, 64.
- Malkan, A., Cappelen-Smith, C., Beran, R., Griffith, N., Toong, C., Wang, M.-X., and Cordato, D. (2015). Anti-synthetase syndrome associated with anti PL-12 and anti-Signal recognition particle antibodies and a necrotizing auto-immune myositis. *J. Clin. Neurosci.* 22, 396–398.
- Malmborg, A.C., Shultz, D.B., Luton, F., Mostov, K.E., Richly, E., Leung, P.S., Benson, G.D., Ansari, A.A., Coppel, R.L., Gershwin, M.E., et al. (1998). Penetration and co-localization in MDCK cell mitochondria of IgA derived from patients with primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmun.* 11, 573–580.
- Mammen, A.L. (2016). Autoimmune Myopathies. *Contin. Minneap. Minn* 22, 1852–1870.
- Mammen, A.L., Casciola-Rosen, L.A., Hall, J.C., Christopher-Stine, L., Corse, A.M., and Rosen, A. (2009). Expression of the dermatomyositis autoantigen Mi-2 in regenerating muscle. *Arthritis Rheum.* 60, 3784–3793.
- Mammen, A.L., Chung, T., Christopher-Stine, L., Rosen, P., Rosen, A., Doering, K.R., and Casciola-Rosen, L.A. (2011). Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A

reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 63, 713–721.

Mammen, A.L., Gaudet, D., Brisson, D., Christopher-Stine, L., Lloyd, T.E., Leffell, M.S., and Zachary, A.A. (2012a). Increased frequency of DRB1*11:01 in anti-hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Care Res.* 64, 1233–1237.

Mammen, A.L., Pak, K., Williams, E.K., Brisson, D., Coresh, J., Selvin, E., and Gaudet, D. (2012b). Rarity of anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase antibodies in statin users, including those with self-limited musculoskeletal side effects. *Arthritis Care Res.* 64, 269–272.

Mamyrova, G., O’Hanlon, T.P., Sillers, L., Malley, K., James-Newton, L., Parks, C.G., Cooper, G.S., Pandey, J.P., Miller, F.W., Rider, L.G., et al. (2008). Cytokine gene polymorphisms as risk and severity factors for juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 58, 3941–3950.

Manivel, V., Sohrabian, A., Wick, M.C., Mullazehi, M., Håkansson, L., and Rönnelid, J. (2015). Anti-type II collagen immune complex-induced granulocyte reactivity is associated with joint erosions in RA patients with anti-collagen antibodies. *Arthritis Res. Ther.* 17, 8.

Marguerie, C., Bunn, C.C., Beynon, H.L., Bernstein, R.M., Hughes, J.M., So, A.K., and Walport, M.J. (1990). Polymyositis, pulmonary fibrosis and autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. *Q. J. Med.* 77, 1019–1038.

Marie, I., Hatron, P.Y., Dominique, S., Cherin, P., Mouthon, L., Menard, J.-F., Levesque, H., and Jouen, F. (2012). Short-term and long-term outcome of anti-Jo1-positive patients with anti-Ro52 antibody. *Semin. Arthritis Rheum.* 41, 890–899.

Mathai, S.C., and Danoff, S.K. (2016). Management of interstitial lung disease associated with connective tissue disease. *BMJ* h6819.

Matsubara, S., and Takamori, M. (1987a). Experimental allergic myositis: strain 13 guinea pig immunised with rabbit myosin B fraction. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 74, 158–162.

Matsubara, S., and Takamori, M. (1987b). Experimental allergic myositis: ultrastructural, histochemical, immunological and immunohistochemical studies. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 74, 151–157.

Matsumoto, Y., Kohyama, K., Park, I.-K., Nakajima, M., and Hiraki, K. (2007). Characterization of pathogenic T cells and autoantibodies in C-protein-induced autoimmune polymyositis. *J. Neuroimmunol.* 190, 90–100.

Matsumura, S., Van De Water, J., Leung, P., Odin, J.A., Yamamoto, K., Gores, G.J., Mostov, K., Ansari, A.A., Coppel, R.L., Shiratori, Y., et al. (2004). Caspase induction by IgA antimitochondrial antibody: IgA-mediated biliary injury in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. Baltimore, Md 39, 1415–1422.

Mattes, M.J. (1987). Biodistribution of antibodies after intraperitoneal or intravenous injection and effect of carbohydrate modifications. *J. Natl. Cancer Inst.* 79, 855–863.

Maundrell, A., Lester, S., Rischmueller, M., Hill, C., Cleland, L.G., Blumbergs, P., Wiese, M., and Limaye, V. (2017). The PTPN22 gene is associated with idiopathic inflammatory myopathy. *Muscle Nerve* 55, 270–273.

McArthur, C., Wang, Y., Veno, P., Zhang, J., and Fiorella, R. (2002). Intracellular trafficking and surface expression of SS-A (Ro), SS-B (La), poly(ADP-ribose) polymerase and alpha-fodrin autoantigens during apoptosis in human salivary gland cells induced by tumour necrosis factor-alpha. *Arch. Oral Biol.* 47, 443–448.

McGonagle, D., and McDermott, M.F. (2006). A Proposed Classification of the Immunological Diseases. *PLoS Med.* 3, e297.

Meriggioli, M.N., and Sanders, D.B. (2012). Muscle autoantibodies in myasthenia gravis: beyond diagnosis? *Expert Rev. Clin. Immunol.* 8, 427–438.

Mescam-Mancini, L., Allenbach, Y., Hervier, B., Devilliers, H., Mariampillay, K., Dubourg, O., Maissonobe, T., Gherardi, R., Mezin, P., Preusse, C., et al. (2015). Anti-Jo-1 antibody-positive patients show a characteristic necrotizing perifascicular myositis. *Brain J. Neurol.* 138, 2485–2492.

van der Meulen, M.F.G., Bronner, I.M., Hoogendijk, J.E., Burger, H., van Venrooij, W.J., Voskuyl, A.E., Dinant, H.J., Linssen, W.H.J.P., Wokke, J.H.J., and de Visser, M. (2003). Polymyositis: an overdiagnosed entity. *Neurology* 61, 316–321.

Meyer, A., Meyer, N., Schaeffer, M., Gottenberg, J.-E., Geny, B., and Sibilia, J. (2015). Incidence and prevalence of inflammatory myopathies: a systematic review. *Rheumatology* 54, 50–63.

Meyer, A., Lannes, B., Goetz, J., Echaniz-Laguna, A., Lipsker, D., Arnaud, L., Martin, T., Gottenberg, J.E., Geny, B., and Sibilia, J. (2017). Inflammatory Muscle Disease: A New Landscape. *Joint Bone Spine*.

Miller, F.W., Chen, W., O'Hanlon, T.P., Cooper, R.G., Vencovsky, J., Rider, L.G., Danko, K., Wedderburn, L.R., Lundberg, I.E., Pachman, L.M., et al. (2015). Genome-wide association study identifies HLA 8.1 ancestral haplotype alleles as major genetic risk factors for myositis phenotypes. *Genes Immun.* 16, 470–480.

Miller, T., Al-Lozi, M.T., Lopate, G., and Pestronk, A. (2002). Myopathy with antibodies to the signal recognition particle: clinical and pathological features. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 73, 420–428.

Mimori, T., Akizuki, M., Yamagata, H., Inada, S., Yoshida, S., and Homma, M. (1981). Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J. Clin. Invest.* 68, 611–620.

Moghadam-Kia, S., Oddis, C.V., Sato, S., Kuwana, M., and Aggarwal, R. (2016). Anti-Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 Is Associated With Rapidly Progressive Lung Disease and Poor Survival in US Patients With Amyopathic and Myopathic Dermatomyositis: Anti-MDA5 in US Patients With DM. *Arthritis Care Res.* 68, 689–694.

- Mohassel, P., Foley, A.R., Donkervoort, S., Fequiere, P.R., Pak, K., Bönnemann, C.G., and Mammen, A.L. (2017). Anti-HMGCR necrotizing myopathy masquerading as a muscular dystrophy in a child. *Muscle Nerve*.
- Molberg, Ø., and Dobloug, C. (2016). Epidemiology of sporadic inclusion body myositis: *Curr. Opin. Rheumatol.* 28, 657–660.
- Morikawa, S., Murakami, T., Yamazaki, H., Izumi, A., Saito, Y., Hamakubo, T., and Kodama, T. (2005). Analysis of the global RNA expression profiles of skeletal muscle cells treated with statins. *J. Atheroscler. Thromb.* 12, 121–131.
- Morrison, T.E., Whitmore, A.C., Shabman, R.S., Lidbury, B.A., Mahalingam, S., and Heise, M.T. (2006). Characterization of Ross River virus tropism and virus-induced inflammation in a mouse model of viral arthritis and myositis. *J. Virol.* 80, 737–749.
- Morrison, T.E., Oko, L., Montgomery, S.A., Whitmore, A.C., Lotstein, A.R., Gunn, B.M., Elmore, S.A., and Heise, M.T. (2011). A mouse model of chikungunya virus-induced musculoskeletal inflammatory disease: evidence of arthritis, tenosynovitis, myositis, and persistence. *Am. J. Pathol.* 178, 32–40.
- Moulton, V.R., Suarez-Fueyo, A., Meidan, E., Li, H., Mizui, M., and Tsokos, G.C. (2017). Pathogenesis of Human Systemic Lupus Erythematosus: A Cellular Perspective. *Trends Mol. Med.* 23, 615–635.
- Mouquet, H., Musette, P., Gougeon, M.-L., Jacquot, S., Lemerrier, B., Lim, A., Gilbert, D., Dutot, I., Roujeau, J.C., D’Incan, M., et al. (2008). B-Cell Depletion Immunotherapy in Pemphigus: Effects on Cellular and Humoral Immune Responses. *J. Invest. Dermatol.* 128, 2859–2869.
- Mozaffar, T., and Pestronk, A. (2000). Myopathy with anti-Jo-1 antibodies: pathology in perimysium and neighbouring muscle fibres. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 68, 472–478.
- Mullazehi, M., Mathsson, L., Lampa, J., and R?nnelid, J. (2006). Surface-bound anti?type II collagen?containing immune complexes induce production of tumor necrosis factor ?, interleukin-1?, and interleukin-8 from peripheral blood monocytes via fc? receptor IIA: A potential pathophysiologic mechanism for humoral anti?type II collagen immunity in arthritis. *Arthritis Rheum.* 54, 1759–1771.
- Muro, Y., Sugiura, K., Hoshino, K., and Akiyama, M. (2012). Disappearance of anti-MDA-5 autoantibodies in clinically amyopathic DM/interstitial lung disease during disease remission. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 51, 800–804.
- Muro, Y., Sugiura, K., and Akiyama, M. (2013). Low prevalence of anti-small ubiquitin-like modifier activating enzyme antibodies in dermatomyositis patients. *Autoimmunity* 46, 279–284.
- Muro, Y., Sugiura, K., Nara, M., Sakamoto, I., Suzuki, N., and Akiyama, M. (2015). High incidence of cancer in anti-small ubiquitin-like modifier activating enzyme antibody-positive dermatomyositis: Table 1. *Rheumatology* 54, 1745–1747.

- Musset, L., Miyara, M., Benveniste, O., Charuel, J.-L., Shikhman, A., Boyer, O., Fowler, R., Mammen, A., Phillips, J., and Mahler, M. (2014). Analysis of Autoantibodies to 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A Reductase Using Different Technologies. *J. Immunol. Res.* *2014*, 1–8.
- Nagaraju, K., Raben, N., Loeffler, L., Parker, T., Rochon, P.J., Lee, E., Danning, C., Wada, R., Thompson, C., Bahtiyar, G., et al. (2000a). Conditional up-regulation of MHC class I in skeletal muscle leads to self-sustaining autoimmune myositis and myositis-specific autoantibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *97*, 9209–9214.
- Nagaraju, K., Raben, N., Loeffler, L., Parker, T., Rochon, P.J., Lee, E., Danning, C., Wada, R., Thompson, C., Bahtiyar, G., et al. (2000b). Conditional up-regulation of MHC class I in skeletal muscle leads to self-sustaining autoimmune myositis and myositis-specific autoantibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *97*, 9209–9214.
- Nagaraju, K., Casciola-Rosen, L., Lundberg, I., Rawat, R., Cutting, S., Thapliyal, R., Chang, J., Dwivedi, S., Mitsak, M., Chen, Y.-W., et al. (2005). Activation of the endoplasmic reticulum stress response in autoimmune myositis: potential role in muscle fiber damage and dysfunction. *Arthritis Rheum.* *52*, 1824–1835.
- Nagata, Y., Partridge, T.A., Matsuda, R., and Zammit, P.S. (2006). Entry of muscle satellite cells into the cell cycle requires sphingolipid signaling. *J. Cell Biol.* *174*, 245–253.
- Nakano, S., and Engel, A.G. (1993). Myasthenia gravis: quantitative immunocytochemical analysis of inflammatory cells and detection of complement membrane attack complex at the end-plate in 30 patients. *Neurology* *43*, 1167–1172.
- Nakao, Y., Mukai, R., Kabashima, T., Ohshima, Y., Hamaguchi, H., Kashiwagi, H., and Okada, N. (1982). A novel antibody which precipitates 7.5S RNA is isolated from a patient with autoimmune disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *109*, 1332–1338.
- Nakashima, R., Imura, Y., Kobayashi, S., Yukawa, N., Yoshifuji, H., Nojima, T., Kawabata, D., Ohmura, K., Usui, T., Fujii, T., et al. (2010). The RIG-I-like receptor IFIH1/MDA5 is a dermatomyositis-specific autoantigen identified by the anti-CADM-140 antibody. *Rheumatol. Oxf. Engl.* *49*, 433–440.
- Nandakumar, K.S., and Holmdahl, R. (2005). Efficient promotion of collagen antibody induced arthritis (CAIA) using four monoclonal antibodies specific for the major epitopes recognized in both collagen induced arthritis and rheumatoid arthritis. *J. Immunol. Methods* *304*, 126–136.
- Nandakumar, K.S., Svensson, L., and Holmdahl, R. (2003). Collagen type II-specific monoclonal antibody-induced arthritis in mice: description of the disease and the influence of age, sex, and genes. *Am. J. Pathol.* *163*, 1827–1837.
- Needham, M., Fabian, V., Knezevic, W., Panegyres, P., Zilko, P., and Mastaglia, F.L. (2007). Progressive myopathy with up-regulation of MHC-I associated with statin therapy. *Neuromuscul. Disord. NMD* *17*, 194–200.

- Needham, M., James, I., Corbett, A., Day, T., Christiansen, F., Phillips, B., and Mastaglia, F.L. (2008). Sporadic inclusion body myositis: phenotypic variability and influence of HLA-DR3 in a cohort of 57 Australian cases. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 79, 1056–1060.
- Nichols, L., Pfeifer, K., Mammen, A.L., Shahnoor, N., and Konersman, C.G. (2015). An Unusual Case of Statin-Induced Myopathy: Anti-HMGCoA Necrotizing Autoimmune Myopathy. *J. Gen. Intern. Med.* 30, 1879–1883.
- Nielen, M.M.J., van Schaardenburg, D., Reesink, H.W., van de Stadt, R.J., van der Horst-Bruinsma, I.E., de Koning, M.H.M.T., Habibuw, M.R., Vandenbroucke, J.P., and Dijkmans, B.A.C. (2004). Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: A study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 50, 380–386.
- Nishikai, M., and Reichlin, M. (1980). Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum.* 23, 881–888.
- Nishio, A., Van de Water, J., Leung, P.S., Joplin, R., Neuberger, J.M., Lake, J., Björkland, A., Tötterman, T.H., Peters, M., Worman, H.J., et al. (1997). Comparative studies of antimitochondrial autoantibodies in sera and bile in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 25, 1085–1089.
- Ntusi, N.B.A., and Heckmann, J.M. (2010). Myopathy with a normal creatine kinase level in juvenile myopathic dermatomyositis. *South Afr. Med. J. Suid-Afr. Tydskr. Vir Geneeskde.* 100, 24–25.
- Oddis, C.V., Fertig, N., and Goel, A (1997). Clinical and serological characterization of the anti-MJ antibody in childhood myositis [ACR abstract report]. *Arthritis Rheum.* 652–652.
- O’Hanlon, T.P., Carrick, D.M., Targoff, I.N., Arnett, F.C., Reveille, J.D., Carrington, M., Gao, X., Oddis, C.V., Morel, P.A., Malley, J.D., et al. (2006). Immunogenetic risk and protective factors for the idiopathic inflammatory myopathies: distinct HLA-A, -B, -Cw, -DRB1, and -DQA1 allelic profiles distinguish European American patients with different myositis autoantibodies. *Medicine (Baltimore)* 85, 111–127.
- O’Hanlon, T.P., Rider, L.G., Schiffenbauer, A., Targoff, I.N., Malley, K., Pandey, J.P., and Miller, F.W. (2008). Immunoglobulin gene polymorphisms are susceptibility factors in clinical and autoantibody subgroups of the idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum.* 58, 3239–3246.
- Ohmi, Y., Ise, W., Harazono, A., Takakura, D., Fukuyama, H., Baba, Y., Narazaki, M., Shoda, H., Takahashi, N., Ohkawa, Y., et al. (2016). Sialylation converts arthritogenic IgG into inhibitors of collagen-induced arthritis. *Nat. Commun.* 7, 11205.
- Ohnuki, Y., Suzuki, S., Shiina, T., Uruha, A., Watanabe, Y., Suzuki, S., Izumi, S., Nakahara, J., Hamanaka, K., Takayama, K., et al. (2016). HLA-DRB1 alleles in immune-mediated necrotizing myopathy. *Neurology* 87, 1954–1955.

- Okada, N., Mimori, T., Mukai, R., Kashiwagi, H., and Hardin, J.A. (1987). Characterization of human autoantibodies that selectively precipitate the 7SL RNA component of the signal recognition particle. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *138*, 3219–3223.
- Okun, E., Mattson, M.P., and Arumugam, T.V. (2010). Involvement of Fc receptors in disorders of the central nervous system. *Neuromolecular Med.* *12*, 164–178.
- Ong, G.L., and Mattes, M.J. (1989). Mouse strains with typical mammalian levels of complement activity. *J. Immunol. Methods* *125*, 147–158.
- Osaki, Y., Nakagawa, Y., Miyahara, S., Iwasaki, H., Ishii, A., Matsuzaka, T., Kobayashi, K., Yatoh, S., Takahashi, A., Yahagi, N., et al. (2015). Skeletal muscle-specific HMG-CoA reductase knockout mice exhibit rhabdomyolysis: A model for statin-induced myopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *466*, 536–540.
- Paciello, O., Wojcik, S., Gradoni, L., Oliva, G., Trapani, F., Iovane, V., Politano, L., and Papparella, S. (2010). Syrian hamster infected with *Leishmania infantum*: a new experimental model for inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* *41*, 355–361.
- Palmer, J.M., Doshi, M., Kirby, J.A., Yeaman, S.J., Bassendine, M.F., and Jones, D.E. (2000). Secretory autoantibodies in primary biliary cirrhosis (PBC). *Clin. Exp. Immunol.* *122*, 423–428.
- Papanastasiou, D., Poulas, K., Kokla, A., and Tzartos, S.J. (2000). Prevention of passively transferred experimental autoimmune myasthenia gravis by Fab fragments of monoclonal antibodies directed against the main immunogenic region of the acetylcholine receptor. *J. Neuroimmunol.* *104*, 124–132.
- Payne, A.S., Ishii, K., Kacir, S., Lin, C., Li, H., Hanakawa, Y., Tsunoda, K., Amagai, M., Stanley, J.R., and Siegel, D.L. (2005). Genetic and functional characterization of human pemphigus vulgaris monoclonal autoantibodies isolated by phage display. *J. Clin. Invest.* *115*, 888–899.
- Pedro-Botet, J., Millán Núñez-Cortés, J., Chillarón, J.J., Flores-Le Roux, J.A., and Rius, J. (2016). Severity of statin-induced adverse effects on muscle and associated conditions: data from the DAMA study. *Expert Opin. Drug Saf.*
- Peers, C., Johnston, I., Lang, B., and Wray, D. (1993). Cross-linking of presynaptic calcium channels: a mechanism of action for Lambert-Eaton myasthenic syndrome antibodies at the mouse neuromuscular junction. *Neurosci. Lett.* *153*, 45–48.
- Pestronk, A. (2011). Acquired immune and inflammatory myopathies: pathologic classification. *Curr. Opin. Rheumatol.* *23*, 595–604.
- Pestronk, A., Schmidt, R.E., and Choksi, R. (2010). Vascular pathology in dermatomyositis and anatomic relations to myopathology. *Muscle Nerve* *42*, 53–61.
- Pfeifle, R., Rothe, T., Ipseiz, N., Scherer, H.U., Culemann, S., Harre, U., Ackermann, J.A., Seefried, M., Kleyer, A., Uderhardt, S., et al. (2016). Regulation of autoantibody activity by the IL-23–TH17 axis determines the onset of autoimmune disease. *Nat. Immunol.* *18*, 104–113.

- Pinal-Fernandez, I., Casciola-Rosen, L.A., Christopher-Stine, L., Corse, A.M., and Mammen, A.L. (2015). The Prevalence of Individual Histopathologic Features Varies according to Autoantibody Status in Muscle Biopsies from Patients with Dermatomyositis. *J. Rheumatol.* 42, 1448–1454.
- Pinal-Fernandez, I., Casal-Dominguez, M., Carrino, J.A., Lahouti, A.H., Basharat, P., Albayda, J., Paik, J.J., Ahlawat, S., Danoff, S.K., Lloyd, T.E., et al. (2016). Thigh muscle MRI in immune-mediated necrotising myopathy: extensive oedema, early muscle damage and role of anti-SRP autoantibodies as a marker of severity. *Ann. Rheum. Dis.*
- Pinal-Fernandez, I., Parks, C., Werner, J.L., Albayda, J., Paik, J.J., Danoff, S.K., Casciola-Rosen, L., Christopher-Stine, L., and Mammen, A.L. (2017). Longitudinal Course of Disease in a Large Cohort of Myositis Patients With Autoantibodies Recognizing the Signal Recognition Particle: Anti-SRP Autoantibodies in Myositis Patients. *Arthritis Care Res.* 69, 263–270.
- Pittock, S.J., Lennon, V.A., McKeon, A., Mandrekar, J., Weinshenker, B.G., Lucchinetti, C.F., O'Toole, O., and Wingerchuk, D.M. (2013). Eculizumab in AQP4-IgG-positive relapsing neuromyelitis optica spectrum disorders: an open-label pilot study. *Lancet Neurol.* 12, 554–562.
- Pluk, H., van Hoeve, B.J.A., van Dooren, S.H.J., Stammen-Vogelzangs, J., van der Heijden, A., Schelhaas, H.J., Verbeek, M.M., Badrising, U.A., Arnardottir, S., Gheorghe, K., et al. (2013). Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. *Ann. Neurol.* 73, 397–407.
- Podell, M., Chen, E., and Shelton, G.D. (1998). Feline immunodeficiency virus associated myopathy in the adult cat. *Muscle Nerve* 21, 1680–1685.
- Porges, A.J., Redecha, P.B., Kimberly, W.T., Csernok, E., Gross, W.L., and Kimberly, R.P. (1994). Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies engage and activate human neutrophils via Fc gamma RIIa. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 153, 1271–1280.
- Portales-Pérez, D., Alarcon-Segovia, D., Llorente, L., Ruiz-Argüelles, A., Abud-Mendoza, C., Baranda, L., de la Fuente, H., Ternynck, T., and González-Amaro, R. (1998). Penetrating Anti-DNA Monoclonal Antibodies Induce Activation of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J. Autoimmun.* 11, 563–571.
- Preuß, C., Goebel, H.H., Held, J., Wengert, O., Scheibe, F., Irlbacher, K., Koch, A., Heppner, F.L., and Stenzel, W. (2012). Immune-Mediated Necrotizing Myopathy Is Characterized by a Specific Th1-M1 Polarized Immune Profile. *Am. J. Pathol.* 181, 2161–2171.
- Prevot, N., Briet, C., Lassmann, H., Tardivel, I., Roy, E., Morin, J., Mak, T.W., Tafuri, A., and Boitard, C. (2010). Abrogation of ICOS/ICOS ligand costimulation in NOD mice results in autoimmune deviation toward the neuromuscular system. *Eur. J. Immunol.* 40, 2267–2276.
- Quast, I., Keller, C.W., Maurer, M.A., Giddens, J.P., Tackenberg, B., Wang, L.-X., Münz, C., Nimmerjahn, F., Dalakas, M.C., and Lünemann, J.D. (2015). Sialylation of IgG Fc domain impairs complement-dependent cytotoxicity. *J. Clin. Invest.* 125, 4160–4170.

- Rademacher, T.W., Williams, P., and Dwek, R.A. (1994). Agalactosyl glycoforms of IgG autoantibodies are pathogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *91*, 6123–6127.
- Rahimov, F., and Kunkel, L.M. (2013). Cellular and molecular mechanisms underlying muscular dystrophy. *J. Cell Biol.* *201*, 499–510.
- Rahman, A. (2004). Autoantibodies, lupus and the science of sabotage. *Rheumatol. Oxf. Engl.* *43*, 1326–1336.
- Ramanathan, S., Langguth, D., Hardy, T.A., Garg, N., Bundell, C., Rojana-Udomsart, A., Dale, R.C., Robertson, T., Mammen, A.L., and Reddel, S.W. (2015). Clinical course and treatment of anti-HMGCR antibody-associated necrotizing autoimmune myopathy. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation* *2*, e96.
- Ramírez, J., and Hagman, J. (2009). The Mi-2/NuRD complex: A critical epigenetic regulator of hematopoietic development, differentiation and cancer. *Epigenetics* *4*, 532–536.
- Rayavarapu, S., Coley, W., Kinder, T.B., and Nagaraju, K. (2013). Idiopathic inflammatory myopathies: pathogenic mechanisms of muscle weakness. *Skelet. Muscle* *3*, 13.
- Raz, E., Ben-Bassat, H., Davidi, T., Shlomai, Z., and Eilat, D. (1993). Cross-reactions of anti-DNA autoantibodies with cell surface proteins. *Eur. J. Immunol.* *23*, 383–390.
- Reed, A.M., and Ytterberg, S.R. (2002). Genetic and environmental risk factors for idiopathic inflammatory myopathies. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* *28*, 891–916.
- Reeves, W.H., Nigam, S.K., and Blobel, G. (1986). Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *83*, 9507–9511.
- Reichlin, M. (1998). Cellular dysfunction induced by penetration of autoantibodies into living cells: cellular damage and dysfunction mediated by antibodies to dsDNA and ribosomal P proteins. *J. Autoimmun.* *11*, 557–561.
- Reichlin, M., and Mattioli, M. (1976). Description of a serological reaction characteristic of polymyositis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* *5*, 12–20.
- Relaix, F., and Zammit, P.S. (2012). Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development* *139*, 2845–2856.
- Reynoso-Paz, S., Leung, P.S., Van De Water, J., Tanaka, A., Munoz, S., Bass, N., Lindor, K., Donald, P.J., Coppel, R.L., Ansari, A.A., et al. (2000). Evidence for a locally driven mucosal response and the presence of mitochondrial antigens in saliva in primary biliary cirrhosis. *Hepatol. Baltim. Md* *31*, 24–29.
- Rider, L.G., Shah, M., Mamyrova, G., Huber, A.M., Rice, M.M., Targoff, I.N., Miller, F.W., and Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Study Group (2013). The myositis autoantibody phenotypes of the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Medicine (Baltimore)* *92*, 223–243.

Rifai, Z., Welle, S., Kamp, C., and Thornton, C.A. (1995). Ragged red fibers in normal aging and inflammatory myopathy. *Ann. Neurol.* 37, 24–29.

Rigolet, A., Musset, L., Dubourg, O., Maisonnobe, T., Grenier, P., Charuel, J.-L., Behin, A., Herson, S., Amoura, Z., and Benveniste, O. (2012). Inflammatory myopathies with anti-Ku antibodies: a prognosis dependent on associated lung disease. *Medicine (Baltimore)* 91, 95–102.

Rivadeneyra-Espinoza, L., and Ruiz-Argüelles, A. (2006). Cell-penetrating anti-native DNA antibodies trigger apoptosis through both the neglect and programmed pathways. *J. Autoimmun.* 26, 52–56.

Rock, B., Labib, R.S., and Diaz, L.A. (1990). Monovalent Fab' immunoglobulin fragments from endemic pemphigus foliaceus autoantibodies reproduce the human disease in neonatal Balb/c mice. *J. Clin. Invest.* 85, 296–299.

Rødgaard, A., Nielsen, F.C., Djurup, R., Somnier, F., and Gammelftoft, S. (1987). Acetylcholine receptor antibody in myasthenia gravis: predominance of IgG subclasses 1 and 3. *Clin. Exp. Immunol.* 67, 82–88.

Rojana-udomsart, A., James, I., Castley, A., Needham, M., Scott, A., Day, T., Kiers, L., Corbett, A., Sue, C., Witt, C., et al. (2012). High-resolution HLA-DRB1 genotyping in an Australian inclusion body myositis (s-IBM) cohort: an analysis of disease-associated alleles and diplotypes. *J. Neuroimmunol.* 250, 77–82.

Rojana-udomsart, A., Mitrpant, C., Bundell, C., Price, L., Luo, Y.-B., Fabian, V., Wilton, S.D., Hollingsworth, P., and Mastaglia, F.L. (2013). Complement-mediated muscle cell lysis: a possible mechanism of myonecrosis in anti-SRP associated necrotizing myopathy (ASANM). *J. Neuroimmunol.* 264, 65–70.

Römisch, K., Miller, F.W., Dobberstein, B., and High, S. (2006). Human autoantibodies against the 54 kDa protein of the signal recognition particle block function at multiple stages. *Arthritis Res. Ther.* 8, R39.

Rose, N.R., and Bona, C. (1993). Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Immunol. Today* 14, 426–430.

Rosenberg, N.L., and Kotzin, B.L. (1989). Aberrant expression of class II MHC antigens by skeletal muscle endothelial cells in experimental autoimmune myositis. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 142, 4289–4294.

Rosenberg, N.L., Ringel, S.P., and Kotzin, B.L. (1987). Experimental autoimmune myositis in SJL/J mice. *Clin. Exp. Immunol.* 68, 117–129.

Roth, A.J., Ooi, J.D., Hess, J.J., van Timmeren, M.M., Berg, E.A., Poulton, C.E., McGregor, J., Burkart, M., Hogan, S.L., Hu, Y., et al. (2013). Epitope specificity determines pathogenicity and detectability in ANCA-associated vasculitis. *J. Clin. Invest.* 123, 1773–1783.

- Rothwell, S., Cooper, R.G., Lamb, J.A., and Chinoy, H. (2013). Entering a new phase of immunogenetics in the idiopathic inflammatory myopathies. *Curr. Opin. Rheumatol.* 25, 735–741.
- Rothwell, S., Cooper, R.G., Lundberg, I.E., Miller, F.W., Gregersen, P.K., Bowes, J., Vencovsky, J., Danko, K., Limaye, V., Selva-O’Callaghan, A., et al. (2016). Dense genotyping of immune-related loci in idiopathic inflammatory myopathies confirms HLA alleles as the strongest genetic risk factor and suggests different genetic background for major clinical subgroups. *Ann. Rheum. Dis.* 75, 1558–1566.
- Rouster-Stevens, K.A., and Pachman, L.M. (2008). Autoantibody to signal recognition particle in African American girls with juvenile polymyositis. *J. Rheumatol.* 35, 927–929.
- Rowley, M., and Whittingham, S. (2015). The Role of Pathogenic Autoantibodies in Autoimmunity. *Antibodies* 4, 314–353.
- Ruíz-Argüelles, A., Pérez-romano, B., Llorente, L., Alarcón-Segovia, D., and Castellanos, J.M. (1998). Penetration of anti-DNA antibodies into immature live cells. *J. Autoimmun.* 11, 547–556.
- Rutjes, S.A., Vree Egberts, W.T.M., Jongen, P., Van Den Hoogen, F., Pruijn, G.J.M., and Van Venrooij, W.J. (1997). Anti-Ro52 antibodies frequently co-occur with anti-Jo-1 antibodies in sera from patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Clin. Exp. Immunol.* 109, 32–40.
- Saadoun, S., Waters, P., Bell, B.A., Vincent, A., Verkman, A.S., and Papadopoulos, M.C. (2010). Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* 133, 349–361.
- Sai, K., Kajinami, K., Akao, H., Iwadare, M., Sato-Ishida, R., Kawai, Y., Takeda, K., Tanimoto, T., Yamano, T., Akasaka, T., et al. (2016). A possible role for HLA-DRB1*04:06 in statin-related myopathy in Japanese patients. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 31, 467–470.
- Salajegheh, M., Lam, T., and Greenberg, S.A. (2011). Autoantibodies against a 43 KDa muscle protein in inclusion body myositis. *PloS One* 6, e20266.
- Sanders, J.-S.F. (2006). Prediction of relapses in PR3-ANCA-associated vasculitis by assessing responses of ANCA titres to treatment. *Rheumatology* 45, 724–729.
- Sanner, H., Kirkhus, E., Merckoll, E., Tollisen, A., Røisland, M., Lie, B.A., Taraldsrud, E., Gran, J.T., and Flatø, B. (2010). Long-term muscular outcome and predisposing and prognostic factors in juvenile dermatomyositis: A case-control study. *Arthritis Care Res.* 62, 1103–1111.
- Sarkar, K., Weinberg, C.R., Oddis, C.V., Medsger Jr., T.A., Plotz, P.H., Reveille, J.D., Arnett, F.C., Targoff, I.N., Genth, E., Love, L.A., et al. (2005). Seasonal influence on the onset of idiopathic inflammatory myopathies in serologically defined groups. *Arthritis Rheum.* 52, 2433–2438.
- Sarma, J.V., and Ward, P.A. (2011). The complement system. *Cell Tissue Res.* 343, 227–235.
- Sathasivam, S. (2012). Statin induced myotoxicity. *Eur. J. Intern. Med.* 23, 317–324.

- Sato, S., Hoshino, K., Satoh, T., Fujita, T., Kawakami, Y., Fujita, T., and Kuwana, M. (2009). RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: Association with rapidly progressive interstitial lung disease. *Arthritis Rheum.* 60, 2193–2200.
- Sato, S., Kuwana, M., Fujita, T., and Suzuki, Y. (2012). Amyopathic dermatomyositis developing rapidly progressive interstitial lung disease with elevation of anti-CADM-140/MDA5 autoantibodies. *Mod. Rheumatol.* 22, 625–629.
- Sato, S., Kuwana, M., Fujita, T., and Suzuki, Y. (2013). Anti-CADM-140/MDA5 autoantibody titer correlates with disease activity and predicts disease outcome in patients with dermatomyositis and rapidly progressive interstitial lung disease. *Mod. Rheumatol. Jpn. Rheum. Assoc.* 23, 496–502.
- Satoh, M., Ajmani, A.K., Hirakata, M., Suwa, A., Winfield, J.B., and Reeves, W.H. (1994). Onset of polymyositis with autoantibodies to threonyl-tRNA synthetase during pregnancy. *J. Rheumatol.* 21, 1564–1566.
- Satoh, T., Okano, T., Matsui, T., Watabe, H., Ogasawara, T., Kubo, K., Kuwana, M., Fertig, N., Oddis, C.V., Kondo, H., et al. (2005). Novel autoantibodies against 7SL RNA in patients with polymyositis/dermatomyositis. *J. Rheumatol.* 32, 1727–1733.
- Schmalbruch, H. (1976). The morphology of regeneration of skeletal muscles in the rat. *Tissue Cell* 8, 673–692.
- Schreiber, A., Xiao, H., Falk, R.J., and Jennette, J.C. (2006). Bone Marrow-Derived Cells Are Sufficient and Necessary Targets to Mediate Glomerulonephritis and Vasculitis Induced by Anti-Myeloperoxidase Antibodies. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17, 3355–3364.
- Schroeder, H.W., and Cavacini, L. (2010). Structure and function of immunoglobulins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125, S41–S52.
- Schulte-Pelkum, J., Fritzler, M., and Mahler, M. (2009a). Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun. Rev.* 8, 632–637.
- Schulte-Pelkum, J., Fritzler, M., and Mahler, M. (2009b). Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun. Rev.* 8, 632–637.
- Schwab, I., and Nimmerjahn, F. (2013). Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nat. Rev. Immunol.* 13, 176–189.
- Sciorati, C., Monno, A., Ascherman, D.P., Seletti, E., Manfredi, A.A., and Rovere-Querini, P. (2015). Required Role of Apoptotic Myogenic Precursors and Toll-like Receptor Stimulation for the Establishment of Autoimmune Myositis in Experimental Murine Models: Apoptosis of Myogenic Precursors and Autoimmune Myositis. *Arthritis Rheumatol.* 67, 809–822.
- Scuderi, F., Mannella, F., Marino, M., Provenzano, C., and Bartoccioni, E. (2006). IL-6-deficient mice show impaired inflammatory response in a model of myosin-induced experimental myositis. *J. Neuroimmunol.* 176, 9–15.

SEARCH Collaborative Group, Link, E., Parish, S., Armitage, J., Bowman, L., Heath, S., Matsuda, F., Gut, I., Lathrop, M., and Collins, R. (2008). SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N. Engl. J. Med.* 359, 789–799.

Sekul, E.A., Chow, C., and Dalakas, M.C. (1997). Magnetic resonance imaging of the forearm as a diagnostic aid in patients with sporadic inclusion body myositis. *Neurology* 48, 863–866.

Selva-O’Callaghan, A., Labrador-Horrillo, M., Solans-Laque, R., Simeon-Aznar, C.P., Martínez-Gómez, X., and Vilardell-Tarrés, M. (2006). Myositis-specific and myositis-associated antibodies in a series of eighty-eight mediterranean patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* 55, 791–798.

Senécal, J.-L., Isabelle, C., Fritzler, M.J., Targoff, I.N., Goldstein, R., Gagné, M., Raynauld, J.-P., Joyal, F., Troyanov, Y., and Dabauvalle, M.-C. (2014). An Autoimmune Myositis-Overlap Syndrome Associated With Autoantibodies to Nuclear Pore Complexes: Description and Long-Term Follow-up of the Anti-Nup Syndrome. *Medicine (Baltimore)* 93, 383–394.

Senécal, J.-L., Raynauld, J.-P., and Troyanov, Y. (2017). A New Classification of Adult Autoimmune Myositis. *Arthritis Rheumatol.* Hoboken NJ.

Shah, M., Mamyrova, G., Targoff, I.N., Huber, A.M., Malley, J.D., Rice, M.M., Miller, F.W., Rider, L.G., and Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Study Group (2013). The clinical phenotypes of the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Medicine (Baltimore)* 92, 25–41.

Shovman, O., Gilburd, B., Chayat, C., Lazar, A.D., Amital, H., Blank, M., Bentow, C., Mahler, M., and Shoenfeld, Y. (2016). Anti-HMGCR antibodies demonstrate high diagnostic value in the diagnosis of immune-mediated necrotizing myopathy following statin exposure. *Immunol. Res.*

Silva, F., Specks, U., Sethi, S., Irazabal, M.V., and Fervenza, F.C. (2009). Successful Pregnancy and Delivery of a Healthy Newborn Despite Transplacental Transfer of Antimyeloperoxidase Antibodies From a Mother With Microscopic Polyangiitis. *Am. J. Kidney Dis.* 54, 542–545.

da Silveira, S.A., Kikuchi, S., Fossati-Jimack, L., Moll, T., Saito, T., Verbeek, J.S., Botto, M., Walport, M.J., Carroll, M., and Izui, S. (2002). Complement Activation Selectively Potentiates the Pathogenicity of the IgG2b and IgG3 Isotypes of a High Affinity Anti-Erythrocyte Autoantibody. *J. Exp. Med.* 195, 665–672.

Sitaru, C., Mihai, S., Otto, C., Chiriac, M.T., Hausser, I., Dotterweich, B., Saito, H., Rose, C., Ishiko, A., and Zillikens, D. (2005). Induction of dermal-epidermal separation in mice by passive transfer of antibodies specific to type VII collagen. *J. Clin. Invest.* 115, 870–878.

Sizemore, T.C. (2015). In the Idiopathic Inflammatory Myopathies, How Significant is Creatine Kinase Levels in Diagnosis and Prognosis? A Case Study and Review of the Literature. 1:025.

Smith, K.G.C., and Clatworthy, M.R. (2010). FcγRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 328–343.

- Smoyer-Tomic, K.E., Amato, A.A., and Fernandes, A.W. (2012). Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies among commercially insured, Medicare supplemental insured, and Medicaid enrolled populations: an administrative claims analysis. *BMC Musculoskelet. Disord.* *13*, 103.
- Soejima, M., Kang, E.H., Gu, X., Katsumata, Y., Clemens, P.R., and Ascherman, D.P. (2011). Role of innate immunity in a murine model of histidyl-transfer RNA synthetase (Jo-1)-mediated myositis. *Arthritis Rheum.* *63*, 479–487.
- Solana, M.E., Ferrer, M.F., Novoa, M.M., Song, W.-C., and Gómez, R.M. (2012). Decay-accelerating factor 1 deficiency exacerbates *Trypanosoma cruzi*-induced murine chronic myositis. *Muscle Nerve* *46*, 582–587.
- Song, Y.-C., Sun, G.-H., Lee, T.-P., Huang, J.C., Yu, C.-L., Chen, C.-H., Tang, S.-J., and Sun, K.-H. (2008). Arginines in the CDR of anti-dsDNA autoantibodies facilitate cell internalization via electrostatic interactions. *Eur. J. Immunol.* *38*, 3178–3190.
- Sonnet, C. (2006). Human macrophages rescue myoblasts and myotubes from apoptosis through a set of adhesion molecular systems. *J. Cell Sci.* *119*, 2497–2507.
- Srinivasan, P., Ekanem, E., Diouf, A., Tonkin, M.L., Miura, K., Boulanger, M.J., Long, C.A., Narum, D.L., and Miller, L.H. (2014). Immunization with a functional protein complex required for erythrocyte invasion protects against lethal malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *111*, 10311–10316.
- Stacey, D.W., Skelly, S., Watson, T., Elkon, K., Weissbach, H., and Brot, N. (1988). The inhibition of protein synthesis by IgG containing anti-ribosome P autoantibodies from systemic lupus erythematosus patients. *Arch. Biochem. Biophys.* *267*, 398–403.
- Stanciu, R., Amoura, Z., Guiguet, M., Rigolet, A., Musset, L., Capron, F., Touitou, D., Cacoub, P., Piette, J.C., Herson, S., et al. (2008). G.P.5.08 The prognosis of anti-synthetase syndrome is related to the lung involvement. *Neuromuscul. Disord.* *18*, 771.
- Stenzel, W., Preuße, C., Allenbach, Y., Pehl, D., Junckerstorff, R., Heppner, F.L., Nolte, K., Aronica, E., Kana, V., Rushing, E., et al. (2015). Nuclear actin aggregation is a hallmark of anti-synthetase syndrome-induced dysimmune myopathy. *Neurology* *84*, 1346–1354.
- Stone, K.B., Oddis, C.V., Fertig, N., Katsumata, Y., Lucas, M., Vogt, M., Domsic, R., and Ascherman, D.P. (2007). Anti-Jo-1 antibody levels correlate with disease activity in idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* *56*, 3125–3131.
- Strongwater, S.L., Dorovini-Zis, K., Ball, R.D., and Schnitzer, T.J. (1984). A murine model of polymyositis induced by coxsackievirus B1 (Tucson strain). *Arthritis Rheum.* *27*, 433–442.
- Stuart, J.M., Tomoda, K., Yoo, T.J., Townes, A.S., and Kang, A.H. (1983). Serum transfer of collagen-induced arthritis. II. Identification and localization of autoantibody to type II collagen in donor and recipient rats. *Arthritis Rheum.* *26*, 1237–1244.

- Sugarman, M.C., Yamasaki, T.R., Oddo, S., Echegoyen, J.C., Murphy, M.P., Golde, T.E., Jannatipour, M., Leissring, M.A., and LaFerla, F.M. (2002). Inclusion body myositis-like phenotype induced by transgenic overexpression of beta APP in skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 6334–6339.
- Sugie, K., Tonomura, Y., and Ueno, S. (2012). Characterization of Dermatomyositis with Coexistence of Anti-Jo-1 and Anti-SRP Antibodies. *Intern. Med.* 51, 799–802.
- Suzuki, S., Satoh, T., Sato, S., Otomo, M., Hirayama, Y., Sato, H., Kawai, M., Ishihara, T., Suzuki, N., and Kuwana, M. (2008). Clinical utility of anti-signal recognition particle antibody in the differential diagnosis of myopathies. *Rheumatology* 47, 1539–1542.
- Suzuki, S., Ohta, M., Shimizu, Y., Hayashi, Y.K., and Nishino, I. (2011). Anti-Signal Recognition Particle Myopathy in the First Decade of Life. *Pediatr. Neurol.* 45, 114–116.
- Suzuki, S., Hayashi, Y.K., Kuwana, M., Tsuburaya, R., Suzuki, N., and Nishino, I. (2012). Myopathy Associated With Antibodies to Signal Recognition Particle: Disease Progression and Neurological Outcome. *Arch. Neurol.* 69.
- Suzuki, S., Yonekawa, T., Kuwana, M., Hayashi, Y.K., Okazaki, Y., Kawaguchi, Y., Suzuki, N., and Nishino, I. (2014). Clinical and histological findings associated with autoantibodies detected by RNA immunoprecipitation in inflammatory myopathies. *J. Neuroimmunol.* 274, 202–208.
- Suzuki, S., Nishikawa, A., Kuwana, M., Nishimura, H., Watanabe, Y., Nakahara, J., Hayashi, Y.K., Suzuki, N., and Nishino, I. (2015). Inflammatory myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: case series of 100 patients. *Orphanet J. Rare Dis.* 10.
- Takada, T., Aoki, A., Asakawa, K., Sakagami, T., Moriyama, H., Narita, I., and Sato, S. (2015). Serum cytokine profiles of patients with interstitial lung disease associated with anti-CADM-140/MDA5 antibody positive amyopathic dermatomyositis. *Respir. Med.* 109, 1174–1180.
- Takahashi, K., Yoshida, N., Murakami, N., Kawata, K., Ishizaki, H., Tanaka-Okamoto, M., Miyoshi, J., Zinn, A.R., Shime, H., and Inoue, N. (2007). Dynamic regulation of p53 subnuclear localization and senescence by MORC3. *Mol. Biol. Cell* 18, 1701–1709.
- Tan, J.A., Roberts-Thomson, P.J., Blumbergs, P., Hakendorf, P., Cox, S.R., and Limaye, V. (2013). Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies in South Australia: a 30-year epidemiologic study of histology-proven cases. *Int. J. Rheum. Dis.* 16, 331–338.
- Tanaka, A., Nalbandian, G., Leung, P.S., Benson, G.D., Munoz, S., Findor, J.A., Branch, A.D., Coppel, R.L., Ansari, A.A., and Gershwin, M.E. (2000). Mucosal immunity and primary biliary cirrhosis: presence of antimitochondrial antibodies in urine. *Hepatology* 32, 910–915.
- Tansley, S.L., Betteridge, Z.E., Simou, S., Jacques, T.S., Pilkington, C., Wood, M., Warriar, K., Wedderburn, L.R., McHugh, N.J., and Juvenile Dermatomyositis Research Group (2017). Anti-HMGCR Autoantibodies in Juvenile Idiopathic Inflammatory Myopathies Identify a Rare but Clinically Important Subset of Patients. *J. Rheumatol.*

- Tard, C., Tiffreau, V., Jaillette, E., Jouen, F., Nelson, I., Bonne, G., Yaou, R., Romero, N., Vallée, L., Vermersch, P., et al. (2017). Anti-HMGCR Antibody–Related Necrotizing Autoimmune Myopathy Mimicking Muscular Dystrophy. *Neuropediatrics*.
- Targoff, I.N., and Reichlin, M. (1985). The association between Mi-2 antibodies and dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 28, 796–803.
- Targoff, I.N., Arnett, F.C., Berman, L., O’Brien, C., and Reichlin, M. (1989). Anti-KJ: a new antibody associated with the syndrome of polymyositis and interstitial lung disease. *J. Clin. Invest.* 84, 162–172.
- Targoff, I.N., Johnson, A.E., and Miller, F.W. (1990). Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum.* 33, 1361–1370.
- Targoff, I.N., Mamyrova, G., Trieu, E.P., Perurena, O., Koneru, B., O’Hanlon, T.P., Miller, F.W., Rider, L.G., Childhood Myositis Heterogeneity Study Group, and International Myositis Collaborative Study Group (2006). A novel autoantibody to a 155-kd protein is associated with dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 54, 3682–3689.
- Targoff, I.N., Trieu, E., and Levy-Neto, M. (2007). Sera with autoantibodies to the MJ antigen react with NXP2. *Arthritis Rheum.* S787.
- Tarricone, E., Ghirardello, A., Rampudda, M., Bassi, N., Punzi, L., and Doria, A. (2012). Anti-SAE antibodies in autoimmune myositis: Identification by unlabelled protein immunoprecipitation in an Italian patient cohort. *J. Immunol. Methods* 384, 128–134.
- Tatsumi, R., Anderson, J.E., Nevoret, C.J., Halevy, O., and Allen, R.E. (1998). HGF/SF Is Present in Normal Adult Skeletal Muscle and Is Capable of Activating Satellite Cells. *Dev. Biol.* 194, 114–128.
- Tatsumi, R., Liu, X., Pulido, A., Morales, M., Sakata, T., Dial, S., Hattori, A., Ikeuchi, Y., and Allen, R.E. (2006). Satellite cell activation in stretched skeletal muscle and the role of nitric oxide and hepatocyte growth factor. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 290, C1487-1494.
- Terato, K., Hasty, K.A., Reife, R.A., Cremer, M.A., Kang, A.H., and Stuart, J.M. (1992). Induction of arthritis with monoclonal antibodies to collagen. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 148, 2103–2108.
- Ternynck, T., Avrameas, A., Ragimbeau, J., Buttin, G., and Avrameas, S. (1998). Immunochemical, structural and translocating properties of anti-DNA antibodies from (NZBxNZW)F1 mice. *J. Autoimmun.* 11, 511–521.
- Tieu, J., Lundberg, I.E., and Limaye, V. (2016). Idiopathic inflammatory myositis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 30, 149–168.
- Tiniakou, E., Pinal-Fernandez, I., Lloyd, T.E., Albayda, J., Paik, J., Werner, J.L., Parks, C.A., Casciola-Rosen, L., Christopher-Stine, L., and Mammen, A.L. (2017). More severe disease and slower recovery in younger patients with anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Rheumatol. Oxf. Engl.*

Tomasová Studynková, J., Charvát, F., Jarosová, K., and Vencovsky, J. (2007). The role of MRI in the assessment of polymyositis and dermatomyositis. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 46, 1174–1179.

Trallero-Araguás, E., Rodrigo-Pendás, J.Á., Selva-O’Callaghan, A., Martínez-Gómez, X., Bosch, X., Labrador-Horrillo, M., Grau-Junyent, J.M., and Vilardell-Tarrés, M. (2012). Usefulness of anti-p155 autoantibody for diagnosing cancer-associated dermatomyositis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 64, 523–532.

Trovato, F., Imbesi, R., Conway, N., and Castrogiovanni, P. (2016). Morphological and Functional Aspects of Human Skeletal Muscle. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* 1, 289–302.

Troyanov, Y., Targoff, I.N., Tremblay, J.-L., Goulet, J.-R., Raymond, Y., and Senécal, J.-L. (2005). Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients. *Medicine (Baltimore)* 84, 231–249.

Troyanov, Y., Targoff, I.N., Payette, M.-P., Raynauld, J.-P., Chartier, S., Goulet, J.-R., Bourré-Tessier, J., Rich, E., Grodzicky, T., Fritzler, M.J., et al. (2014). Redefining Dermatomyositis: A Description of New Diagnostic Criteria That Differentiate Pure Dermatomyositis From Overlap Myositis With Dermatomyositis Features. *Medicine (Baltimore)* 93, 318–332.

Troyanov, Y., Landon-Cardinal, O., Fritzler, M.J., Ferreira, J., Targoff, I.N., Rich, E., Goulet, M., Goulet, J.-R., Bourré-Tessier, J., Robitaille, Y., et al. (2017). Atorvastatin-induced necrotizing autoimmune myositis: An emerging dominant entity in patients with autoimmune myositis presenting with a pure polymyositis phenotype. *Medicine (Baltimore)* 96, e5694.

Tsai, W.-W., Wang, Z., Yiu, T.T., Akdemir, K.C., Xia, W., Winter, S., Tsai, C.-Y., Shi, X., Schwarzer, D., Plunkett, W., et al. (2010). TRIM24 links a non-canonical histone signature to breast cancer. *Nature* 468, 927–932.

Tüzün, E., and Christadoss, P. (2013). Complement associated pathogenic mechanisms in myasthenia gravis. *Autoimmun. Rev.* 12, 904–911.

Uibo, R., Mackay, I.R., Rowley, M., Humphries, P., Armstrong, J.M., and McNeilage, J. (1990). Inhibition of enzyme function by human autoantibodies to an autoantigen pyruvate dehydrogenase E2: different epitope for spontaneous human and induced rabbit autoantibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 80, 19–24.

Uruha, A., Suzuki, S., Suzuki, N., and Nishino, I. (2016). Perifascicular necrosis in anti-synthetase syndrome beyond anti-Jo-1. *Brain* 139, e50–e50.

Uysal, H., Bockermann, R., Nandakumar, K.S., Sehnert, B., Bajtner, E., Engström, M., Serre, G., Burkhardt, H., Thunnissen, M.M.G.M., and Holmdahl, R. (2009). Structure and pathogenicity of antibodies specific for citrullinated collagen type II in experimental arthritis. *J. Exp. Med.* 206, 449–462.

Valenzuela, A., Chung, L., Casciola-Rosen, L., and Fiorentino, D. (2014). Identification of clinical features and autoantibodies associated with calcinosis in dermatomyositis. *JAMA Dermatol.* 150, 724–729.

- Valiyil, R., Casciola-Rosen, L., Hong, G., Mammen, A., and Christopher-Stine, L. (2010). Rituximab therapy for myopathy associated with anti-signal recognition particle antibodies: a case series. *Arthritis Care Res.* 62, 1328–1334.
- Van Rossum, A.P., van der Geld, Y.M., Limburg, P.C., and Kallenberg, C.G.M. (2005). Human anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies to proteinase 3 (PR3-ANCA) bind to neutrophils. *Kidney Int.* 68, 537–541.
- Váncsa, A., Gergely, L., Ponyi, A., Lakos, G., Németh, J., Szodoray, P., and Dankó, K. (2010). Myositis-specific and myositis-associated antibodies in overlap myositis in comparison to primary dermatopolymyositis: Relevance for clinical classification: Retrospective study of 169 patients. *Joint Bone Spine* 77, 125–130.
- Vincze, M., Molnár, P.A., Tumpek, J., Szollosi, L., Gyetvai, A., Kapitány, A., and Dankó, K. (2010). An unusual association: anti-Jo1 and anti-SRP antibodies in the serum of a patient with polymyositis. *Clin. Rheumatol.* 29, 811–814.
- Walter, P., Gilmore, R., and Blobel, G. (1984). Protein translocation across the endoplasmic reticulum. *Cell* 38, 5–8.
- Wang, J., Guo, G., Chen, G., Wu, B., Lu, L., and Bao, L. (2013). Meta-analysis of the association of dermatomyositis and polymyositis with cancer. *Br. J. Dermatol.* 169, 838–847.
- Wang, L., Liu, L., Hao, H., Gao, F., Liu, X., Wang, Z., Zhang, W., Lv, H., and Yuan, Y. (2014). Myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: clinical and histopathological features in Chinese patients. *Neuromuscul. Disord.* NMD 24, 335–341.
- Wang, Q., Duan, F., Liu, P., Wang, P.F., and Wang, M.X. (2016). Expression of anti-SRP19 antibody in muscle tissues from patients with autoimmune necrotizing myopathy. *Genet. Mol. Res.* GMR 15.
- Wang, Y., Kristan, J., Hao, L., Lenkoski, C.S., Shen, Y., and Matis, L.A. (2000). A Role for Complement in Antibody-Mediated Inflammation: C5-Deficient DBA/1 Mice Are Resistant to Collagen-Induced Arthritis. *J. Immunol.* 164, 4340–4347.
- Watanabe, Y., Suzuki, S., Nishimura, H., Murata, K., Kurashige, T., Ikawa, M., Asahi, M., Konishi, H., Mitsuma, S., Kawabata, S., et al. (2015). Statins and myotoxic effects associated with anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase autoantibodies: an observational study in Japan. *Medicine (Baltimore)* 94, e416.
- Watanabe, Y., Uruha, A., Suzuki, S., Nakahara, J., Hamanaka, K., Takayama, K., Suzuki, N., and Nishino, I. (2016). Clinical features and prognosis in anti-SRP and anti-HMGCR necrotising myopathy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 87, 1038–1044.
- Weisbart, R.H., Gera, J.F., Chan, G., Hansen, J.E., Li, E., Cloninger, C., Levine, A.J., and Nishimura, R.N. (2012). A Cell-Penetrating Bispecific Antibody for Therapeutic Regulation of Intracellular Targets. *Mol. Cancer Ther.* 11, 2169–2173.

- Weller, A.H., Magliato, S.A., Bell, K.P., and Rosenberg, N.L. (1997). Spontaneous myopathy in the SJL/J mouse: pathology and strength loss. *Muscle Nerve* 20, 72–82.
- Werner, J.L., Christopher-Stine, L., Ghazarian, S.R., Pak, K.S., Kus, J.E., Daya, N.R., Lloyd, T.E., and Mammen, A.L. (2012). Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 64, 4087–4093.
- Witebsky, E., Rose, N.R., Terplan, K., Paine, J.R., and Egan, R.W. (1957). Chronic thyroiditis and autoimmunization. *J. Am. Med. Assoc.* 164, 1439–1447.
- Wooley, P.H., Luthra, H.S., Singh, S.K., Huse, A.R., Stuart, J.M., and David, C.S. (1984). Passive transfer of arthritis to mice by injection of human anti-type II collagen antibody. *Mayo Clin. Proc.* 59, 737–743.
- Xiao, H., Heeringa, P., Hu, P., Liu, Z., Zhao, M., Aratani, Y., Maeda, N., Falk, R.J., and Jennette, J.C. (2002). Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for myeloperoxidase cause glomerulonephritis and vasculitis in mice. *J. Clin. Invest.* 110, 955–963.
- Yamasaki, Y., Yamada, H., Nozaki, T., Akaogi, J., Nichols, C., Lyons, R., Loy, A.C., Chan, E.K.L., Reeves, W.H., and Satoh, M. (2006). Unusually high frequency of autoantibodies to PL-7 associated with milder muscle disease in Japanese patients with polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 54, 2004–2009.
- Yao, L., and Gai, N. (2012). Fat-Corrected T2 Measurement as a Marker of Active Muscle Disease in Inflammatory Myopathy. *Am. J. Roentgenol.* 198, W475–W481.
- Yoshida, K., Ishii, K., Shimizu, A., Yokouchi, M., Amagai, M., Shiraishi, K., Shirakata, Y., Stanley, J.R., and Ishiko, A. (2017). Non-pathogenic pemphigus foliaceus (PF) IgG acts synergistically with a directly pathogenic PF IgG to increase blistering by p38MAPK-dependent desmoglein 1 clustering. *J. Dermatol. Sci.* 85, 197–207.
- Young, J.B., and Ghobrial, I.I. (2015). Autoimmune statin-induced myopathy: a case report. *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect.* 5, 28374.
- Zack, D.J., Stempniak, M., Wong, A.L., Taylor, C., and Weisbart, R.H. (1996). Mechanisms of cellular penetration and nuclear localization of an anti-double strand DNA autoantibody. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 157, 2082–2088.
- Zaletel, K., and Gaberscek, S. (2011). Hashimotos Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Curr. Genomics* 12, 576–588.
- Zanella, A., and Barcellini, W. (2014). Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica* 99, 1547–1554.
- Zhang, Y., LeRoy, G., Seelig, H.P., Lane, W.S., and Reinberg, D. (1998). The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell* 95, 279–289.

Zhao, Z.-J., Pan, Y.-Z., Liu, Q.-J., and Li, X.-H. (2013). Exposure assessment of lovastatin in Pu-erh tea. *Int. J. Food Microbiol.* *164*, 26–31.

Zheng, Y., Liu, L., Wang, L., Xiao, J., Wang, Z., Lv, H., Zhang, W., and Yuan, Y. (2015). Magnetic resonance imaging changes of thigh muscles in myopathy with antibodies to signal recognition particle. *Rheumatol. Oxf. Engl.* *54*, 1017–1024.