



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **17 septembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur MUÑIZ CASTRILLO Sergio**

Titre de la thèse : « *Immunogénétique des encéphalites auto-immunes et maladies associées* »

Résumé



Récemment, plusieurs types d'encéphalites auto-immunes et d'autres maladies associées ont été décrites grâce à la découverte d'autoanticorps ciblant différents antigènes neurogliaux du système nerveux central et périphérique. Bien que la découverte de ces anticorps ait permis des diagnostics plus précis et une meilleure compréhension de certains mécanismes pathogéniques sous-jacents, les processus exacts menant à la rupture de tolérance immune sont encore inconnus. Ceux-ci sont probablement le résultat d'une interaction complexe entre des facteurs environnementaux et des caractéristiques génétiques. L'antigène leucocytaire humain (*human leukocyte antigen*, HLA) est le principal facteur génétique lié à l'auto-immunité. De nombreuses associations avec différentes maladies autoimmunes ont été décrites et dans certains cas, un rôle dans la pathogenèse a été démontré. Cependant, peu d'études ont été menées à ce jour sur les encéphalites auto-immunes et plusieurs questions restent en suspens. Notre travail visait à étudier l'importance du système HLA dans la prédisposition génétique des encéphalites auto-immunes, la corrélation génotype-phénotype, et les affinités de liaison aux peptides des HLA qui sont associés à ces encéphalites. Nous avons sélectionné quatre sous-types d'encéphalites autoimmunes définies par la présence d'anticorps contre *glutamic acid decarboxylase 65* (GAD65), *contactin-associated protein-like 2* (CASPR2), *leucine-rich glioma-inactivated 1* (LGI1), et *adenylate kinase 5* (AK5).

Dans une première étude, nous avons étudié l'association entre l'HLA et les troubles neurologiques à anticorps anti-GAD65. Trois types de troubles peuvent être retrouvés : encéphalite

limbique (EL), ataxie cérébelleuse, et syndrome de la personne raide. Nous avons obtenu les génotypes HLA de 32 patients non apparentés avec des présentations neurologiques différentes et des anticorps anti-GAD65, en utilisant à la fois le séquençage de nouvelle génération (*next-generation sequencing*, NGS) et l'inférence basée sur des données de GWAS (*genome-wide association studies*). Nous avons constaté que l'haplotype DQA1*05:01-DQB1*02:01-DRB1*03:01 était le plus fréquent (41% des patients), bien qu'au niveau allélique seul DQB1*02:01 était statistiquement significatif. Aucune association n'a été observée entre le statut de porteur DQ2 et les caractéristiques démographiques, les comorbidités auto-immunes ou le phénotype neurologique. Nous avons également étudié les propriétés de liaison des molécules HLA de l'haplotype DQA1*05:01-DQB1*02:01-DRB1*03:01 aux peptides dérivés de GAD65 en utilisant une approche *in silico*. Nous avons constaté que les hétérodimères DQ avaient une affinité plus élevée que DRB1*03:01. Enfin, puisque l'haplotype DQA1*05:01-DQB1*02:01-DRB1*03:01 était porté par moins de la moitié des patients, nous émettons l'hypothèse que d'autres gènes non-HLA pourraient être impliqués dans la prédisposition génétique aux troubles neurologiques à anticorps anti-GAD65. Pour explorer cette hypothèse, nous avons mené une étude basée sur des entretiens des patients pour rapporter les antécédents familiaux d'auto-immunité chez 68% des 65 patients inclus. Les maladies auto-immunes et les modèles potentiels d'hérédité étaient très divers, suggérant une prédisposition génétique hétérogène qui implique probablement des gènes différents.

Dans un deuxième travail, nous avons cherché à mieux caractériser l'association entre l'allèle HLA DRB1*11:01 et les maladies à anticorps anti-CASPR2 en utilisant une classification clinique précise de 56 patients grâce à une analyse en cluster. Nous avons donc obtenu quatre sous-ensembles différents de patients (EL isolée, EL combinée à d'autres symptômes, syndrome de Morvan, et neuromyotonie acquise). Les deux groupes d'EL semblaient indistincts lorsque nous avons étudié leurs caractéristiques biologiques (titres d'auto-anticorps, présence ou non dans le LCR, association d'un cancer...). A l'opposé, les syndromes de Morvan et les neuromyotonies avaient des caractéristiques très différentes des EL, permettant de séparer trois groupes ayant des attributs bien distincts. Nous avons ensuite effectué un génotypage HLA par NGS chez 30 patients, et trouvé que DRB1*11:01 était surreprésenté uniquement chez les patients ayant une EL (94% de porteurs), tandis que les patients atteints de syndrome de Morvan et de neuromyotonie acquise présentaient des fréquences de porteurs similaires à celles du groupe témoin. Ces résultats soutiennent l'existence de mécanismes pathogènes différents, en particulier entre l'EL non paranéoplasique et le syndrome de Morvan généralement associé au thymome malin. De plus, nous avons utilisé une analyse *in silico* pour comparer l'affinité des différentes molécules HLA présentes dans notre cohorte EL pour les peptides dérivés de CASPR2, trouvant un chevauchement modeste dans leur spectre de liaison.

L'objectif de notre troisième étude était de déterminer s'il existe des différences entre les patients avec une EL à anticorps anti-LGI1 portant DRB1*07:01 et ceux ne portant pas cet allèle. Nous avons constaté que les non-porteurs (9/72, 12%) étaient plus fréquemment de jeunes femmes, présentant donc un profil démographique atypique pour cette maladie. De plus, dans la même étude,

nous avons étudié la valeur clinique et pronostique de la positivité du liquide céphalo-rachidien (LCR) pour les anticorps LGI1 dans une cohorte étendue de 134 patients. Nous avons observé que les patients avec (105/134, 78%) et sans (29/134, 22%) anticorps détectables dans le LCR étaient cliniquement indiscernables, bien que certaines différences dans les tests complémentaires et les résultats du pronostic à long terme suggèrent que la positivité du LCR traduit une réponse immunitaire plus intense. Cependant, il n'y avait aucune association entre la positivité du LCR et l'HLA. Finalement, lorsque nous avons comparé le spectre de liaison aux peptides de DRB1*07:01 à celui des molécules DRB1 trouvées dans les non-porteurs de DRB1*07:01, nous avons obtenu un grand chevauchement, comprenant principalement des peptides dans le domaine riche en leucine. Au contraire, les affinités de liaison des hétérodimères DQ associés à ces DRB1 étaient très diverses, ce qui suggère que les molécules DRB1 sont très probablement impliquées dans une présentation altérée des peptides dérivé de LGI1.

La quatrième et dernière étude visait à élargir nos connaissances concernant la présentation clinique et la pathogenèse de l'EL à anticorps anti-AK5. Nous avons examiné 10 nouveaux patients ainsi que 16 cas de la littérature, fournissant une description plus détaillée de leur présentation clinique, qui était caractérisée par une amnésie sévère (100%), une dépression (68%), une perte de poids/asthénie/anorexie (44%), et l'absence de crises convulsives au début de la maladie, mais ultérieurement présentes chez 16% des patients. Tous les patients présentaient des anomalies du LCR, l'IgG1 était la sous-classe prédominante dans le LCR et le sérum, et des hyper-intensités du lobe temporal évoluant vers une atrophie sévère étaient observées dans près de 90% des cas. Nous avons également génotypé 11 patients à l'aide de NGS et trouvé une association avec l'haplotype de classe II DQA1*05:01-DQB1*02:01-DRB1*03:01 (73% de porteurs). Enfin, nous avons pu observer l'infiltrat massif de lymphocytes T CD4+ et CD8+ avec une expression intense de granzyme B dans une biopsie du lobe temporal d'un patient. Corrélié à l'analyse protéomique du LCR montrant que les voies de l'apoptose et des réponses immunitaires innées/adaptatives étaient enrichies par rapport aux patients à anticorps anti-LGI1/CASPR2/Yo/Ma2, nos résultats permettent de montrer que l'EL à anticorps anti-AK5 a une pathogenèse très distincte dominée par les lymphocytes T et conduisant à une réponse cytotoxique agressive.

Nos résultats mettent en évidence plusieurs points importants. Premièrement, il existe dans certains sous-groupes une forte association entre un allèle HLA spécifique et une EL non-paranéoplasique (LGI1 et CASPR2). Ces patients ont des anticorps de sous-type IgG4. Deuxièmement, une association plus faible avec l'haplotype DQA1*05:01-DQB1*02:01-DRB1*03:01 est observée dans d'autres cas (GAD et AK5). Chez ces patients, les troubles neurologiques ne sont pas liés au cancer, les patients ont des anticorps de sous-type IgG1, et les lymphocytes T semblent jouer un rôle majeur dans la pathogenèse des troubles neurologiques. Troisièmement, l'implication du système HLA dans la prédisposition génétique aux syndromes neurologiques paranéoplasiques semble faible. En conclusion, les résultats de cette thèse soutiennent un rôle significatif de l'HLA dans la pathogenèse des encéphalites auto-immunes. Notre travail a

permis une meilleure caractérisation des associations précédemment rapportées ainsi que la description de nouveaux haplotypes, soulignant l'importance d'une classification clinique et biologique précise des encéphalites autoimmunes pour mieux comprendre les mécanismes pathogéniques qui semblent être différents suivant les entités étudiées.