

DES MODÈLES ANIMAUX AUX GLOMÉRULOPATHIES EXTRAMEMBRANEUSES HUMAINES : L'HISTOIRE CONTINUE

par

P. RONCO* et H. DEBIEC*

INTRODUCTION

La glomérulopathie extramembraneuse (GEM) est caractérisée par l'accumulation de dépôts immuns sur le versant externe de la membrane basale glomérulaire (MBG) qui devient épaissie. Ces dépôts consistent d'IgG, principalement IgG4 et IgG1, d'antigènes dont certains ont été identifiés récemment, et du complexe d'attaque membranaire du complément C5b-9. La formation de dépôts immuns sous-épithéliaux et l'activation du complément sont responsables de l'augmentation de perméabilité du capillaire glomérulaire à l'origine de la protéinurie.

La GEM représente la cause la plus fréquente de syndrome néphrotique idiopathique chez les caucasiens, rendant compte de 20 % des cas. Bien qu'une rémission spontanée du syndrome néphrotique survienne chez environ un tiers des patients, 40 % des patients environ atteignent le stade d'insuffisance rénale terminale après 10 ans d'évolution [1, 2].

Quatre-vingts pour cent des cas sont considérés comme « idiopathiques », tandis que 20 % sont étiquetés « secondaires » car ils surviennent chez des patients présentant une infection (hépatite B chez l'enfant, syphilis), un lupus ou une maladie apparentée, un cancer, ou prenant des médicaments (sels de métaux lourds, D-pénicillamine et dérivés, enzymothérapie). Les GEM idiopathiques sont généralement

* INSERM UMR S702, UPMC Université Paris 6, Hôpital Tenon, Paris.

considérées comme des maladies autoimmunes, alors que les formes secondaires impliquent des antigènes étrangers, de nature virale ou tumorale.

Le traitement des GEM est controversé [3], en partie à cause de l'hétérogénéité de la maladie et de l'absence de biomarqueurs sensibles résultant de l'ignorance des cibles antigéniques et des anticorps néphritogènes. La clé d'un traitement physiopathologique réside dans la compréhension des événements qui conduisent à l'immunisation, à la formation des dépôts immuns, et à l'activation du complément et des autres médiateurs de la protéinurie, ce qui requiert l'identification du ou des antigènes pathogènes.

Dans les 10 dernières années, des avancées considérables ont été réalisées dans la compréhension des mécanismes moléculaires des GEM. Tout a commencé en 2002 avec l'identification par notre groupe de l'endopeptidase neutre (EPN) comme étant l'antigène responsable chez des enfants présentant une GEM anténatale de mécanisme alloimmun [4, 5]. Cette découverte apportait la preuve du concept qu'un antigène humain podocytaire pouvait servir de cible aux anticorps circulants néphritogènes. Elle confirmait ainsi chez l'homme les données expérimentales sur le rôle de la mégaline, un autre antigène podocytaire du rat, dans le modèle expérimental murin décrit par Heymann [6, 7]. L'identification de l'EPN podocytaire ouvrit la voie à celle du récepteur de type M de la phospholipase A₂ (PLA₂R), le premier antigène podocytaire impliqué dans les GEM idiopathiques autoimmunes [8]. Encore plus récemment, d'autres antigènes ont été identifiés dont l'aldose réductase (AR) et la superoxyde dismutase-2 (SOD2) mais leur rôle est controversé car ils ne sont pas présents à la surface des podocytes normaux [9]. Des antigènes non podocytaires, circulants, peuvent également être en cause : c'est le cas de la sérum albumine bovine dont nous avons montré qu'une forme cationique pouvait être impliqué dans des GEM « idiopathiques » du jeune enfant [10], réalisant ainsi une contrepartie chez l'homme du modèle expérimental d'antigène « planté » décrit par Border et coll. en 1982 [11].

MODÈLES EXPÉRIMENTAUX

Néphrite de Heymann

Le modèle actif de la néphrite de Heymann est induit par immunisation de rats de souche Lewis avec une préparation de protéines de la bordure en brosse. Les études initiales suggéraient que les dépôts sous-épithéliaux étaient la conséquence du « trapping » dans les glomérules de complexes immuns circulants formés par des antigènes apparentés à la bordure en brosse et des anticorps correspondants. Cette hypothèse reposait sur le fait que la maladie glomérulaire était induite par des préparations antigéniques de la bordure en brosse, et non d'extraits glomérulaires.

Par la suite, le développement du modèle de néphrite de Heymann dans lequel les rats reçoivent une injection d'anticorps de lapin anti-bordure en brosse, a fait naître l'hypothèse que les dépôts immuns sous-épithéliaux pouvaient être formés sans l'intervention de complexes immuns circulants. Van Damme et coll. [12] et Couser et coll. [13], en utilisant des systèmes *ex vivo* de rein perfusé isolé, démontrèrent que les anticorps anti-bordure en brosse pouvaient se fixer dans les

glomérules en l'absence d'antigène de bordure en brosse circulant, apportant ainsi la preuve que la formation de complexes immuns avait lieu *in situ*. La démonstration définitive de la formation des complexes immuns *in situ* dans la paroi du capillaire glomérulaire a été apportée par l'identification de l'antigène.

L'autoantigène de la néphrite de Heymann a été identifié par Kerjaschki et Farquhar au début des années 1980 [6, 7] comme étant une protéine membranaire du podocyte, dénommée « mégaline ». C'est une protéine transmembranaire de 4 600 acides aminés dont la masse moléculaire est voisine de 600 kDa. Il s'agit d'un récepteur à multiples ligands qui appartient à la superfamille des récepteurs des LDL. On le trouve avec la clathrine à la semelle des pédicelles au sein des puits mantelés, au site de formation des complexes immuns.

Les épitopes impliqués dans la maladie sont localisés dans un petit segment glycosylé à l'extrémité N-terminale de la mégaline [14]. La croissance continue des dépôts immuns requiert la synthèse *de novo* de nouvelles molécules de mégaline qui sont vraisemblablement acheminées par des vésicules qui fusionnent avec la membrane cellulaire à la base des pédicelles [15]. Ces résultats apportèrent la première démonstration que les podocytes pouvaient contribuer activement à la formation des dépôts immuns glomérulaires dans les GEM.

Bien que des avancées considérables dans les mécanismes de formation des complexes immuns et de l'activation du complément aient été apportées par les études de la néphrite de Heymann, la mégaline ne peut pas être impliquée dans les GEM humaines car elle n'est pas détectée dans les podocytes humains (alors qu'elle est fortement présente dans la bordure en brosse), ni dans les dépôts immuns chez les patients ayant une GEM. En fait, le rat est la seule espèce dans laquelle la mégaline est détectée dans les glomérules, et la seule aussi dans laquelle on peut induire une néphrite de Heymann.

Glomérulonéphrite extramembraneuse induite par la sérum albumine bovine (SAB) cationique

L'année de l'identification de la mégaline, Border et coll. [11] ont mis au point un nouveau modèle de GEM chez le lapin immunisé avec la SAB cationique, en faisant l'hypothèse que la charge de l'antigène pourrait jouer un rôle important dans la formation des dépôts sous-épithéliaux au contact d'une membrane basale glomérulaire (MBG) chargée négativement. En utilisant le schéma d'immunisation de la maladie sérique, les auteurs ont injecté quotidiennement par voie intraveineuse 25 mg de SAB rendue chimiquement cationique (pI > 9,5) ou plus anionique (pI, 3,5-4,6), ou de la SAB native non modifiée (pI, 4,5-5,1). Malgré une immunogénicité comparable, seuls les animaux recevant la SAB cationique ont développé des dépôts extramembraneux généralisés contenant de l'IgG, du C3 et de la SAB, détectés 2 semaines après l'injection, et augmentant jusqu'à la mort à 6 semaines. En revanche, les animaux immunisés avec la SAB anionique ou native n'ont développé que des dépôts mésangiaux puis pariétaux, avec très peu de dépôts extramembraneux. La protéinurie était également beaucoup plus élevée chez les animaux immunisés avec la SAB cationique. Pour confirmer la formation *in situ* des complexes immuns, les lapins ont reçu des injections intraveineuses de SAB cationique ou native, puis leurs reins ont été perfusés *in vivo* avec des anticorps de mouton anti-SAB. Des

dépôts pariétaux d'IgG et de C3 n'ont été détectés que dans le groupe recevant de la SAB cationique [16]. Les charges négatives de la MBG sont principalement portées par les glycosaminoglycanes à héparane sulfate. Quand celles-ci sont neutralisées par l'injection de protamine sulfate, la formation des dépôts immuns est considérablement réduite chez les lapins injectés avec la SAB cationique ; il en est de même pour l'albuminurie [16].

Ces résultats révèlent un nouveau mécanisme de formation des complexes immuns sous-épithéliaux consécutive à la fixation première d'un antigène chargé positivement, suivie du dépôt de l'anticorps. Dans cette situation, le podocyte ne contribue pas à la formation des dépôts extramembraneux. Dans les deux cas, néphrite de Heymann et GEM impliquant des antigènes « plantés » pour des raisons physicochimiques, les complexes immuns se forment *in situ* dans la paroi du capillaire glomérulaire. Il est peu probable que des complexes immuns circulants, préformés dans la circulation, puissent se localiser en situation sous-épithéliale, sur le versant externe de la MBG, en raison de leur taille.

GLOMÉRULONÉPHRITE EXTRAMEMBRANEUSE PAR ALLOIMMUNISATION

Après 20 ans de recherche depuis la découverte de la mégaline, nous avons identifié un antigène équivalent de la mégaline chez l'homme chez un enfant né avec une GEM (Figure 1, voir Planche couleurs p. 320). En raison du développement précoce de la GEM chez cet enfant, nous avons fait l'hypothèse que la mère s'était immunisée pendant la grossesse, transférant au fœtus des anticorps néphritogènes. La nature de l'antigène cible a été suspectée sur les résultats de l'examen en immunofluorescence des sections de rein humain et de reins de lapin et de rat incubées avec l'anticorps de la mère ou de l'enfant. Le même patron de fluorescence dans les bordures en brosse et le long des capillaires glomérulaires a été observé chez l'homme et le lapin, tandis que chez le rat, le marquage était restreint aux cellules de la capsule de Bowman et à la bordure en brosse des segments du tubule proximal situés dans le cortex profond. Nous avons préalablement observé des différences inter-espèces similaires avec les anticorps anti-EPN [17]. Cette observation nous a conduit à identifier l'EPN comme la cible antigénique des anticorps de la mère et de l'enfant par Western blot et immunoprécipitation [4].

Les anticorps anti-EPN induisent la maladie rénale anténatale

Les anticorps produits par la mère sont responsables de la maladie de l'enfant car celle-ci a pu être transférée passivement au lapin adulte et aux lapereaux à la naissance par l'injection des IgG de la mère, alors que les IgG du père étaient sans effet. En outre, l'EPN a été localisée par microscopie confocale dans les dépôts immuns avec l'IgG et le complexe d'attaque membranaire du complément C5b-9, dans la biopsie de l'enfant et chez les lapins injectés avec les IgG maternelles [4, 18]. L'EPN apparaît à un stade initial de développement du glomérule, le corps

en S, préalable à la formation des capillaires et continue à être exprimée dans les podocytes matures. Elle peut être la cible des anticorps maternels circulants dès le stade post-capillaire quand les glomérules commencent à être perfusés (Figure 2).

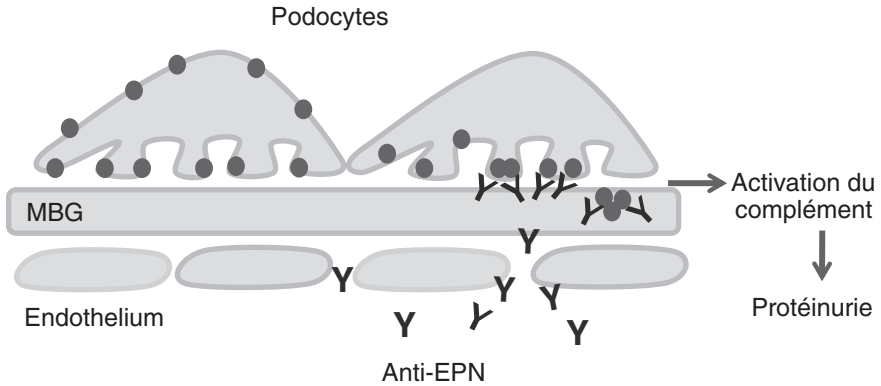


Fig. 2. – Mécanisme de formation des dépôts extramembraneux.

Dès que les glomérules sont vascularisés, les anticorps anti-EPN traversent l'endothélium fenestré et la membrane basale glomérulaire (MBG), et atteignent leur cible antigénique, l'EPN (ronds noirs) à la surface des podocytes. La fixation de l'anticorps entraîne une redistribution de l'antigène (« clustering ») suivie du relargage des complexes immuns qui adhèrent à des composants de la MBG. Les complexes immuns augmentent en taille et activent le complément, induisant une cascade d'événements qui augmentent la perméabilité de la paroi capillaire aux protéines et provoquent l'apparition d'un syndrome néphrotique.

Mécanismes de l'alloimmunisation : un déficit génétique maternel en EPN

Parce que la mère n'avait aucune anomalie rénale apparente malgré des titres très élevés d'anticorps anti-EPN, nous avons fait l'hypothèse qu'elle pourrait être déficiente en EPN et nous avons analysé la présence de l'EPN dans les granulocytes des parents [4]. Les extraits protéiques préparés à partir des granulocytes maternels ne réagissaient avec aucun des anticorps anti-EPN. En outre, le sérum de la mère reconnaissait l'EPN dans les granulocytes du père, mais pas dans ses propres granulocytes, ce qui suggérerait un mécanisme d'alloimmunisation (*voir* Figure 1, Planche couleurs p. 320).

L'alloimmunisation est survenue vraisemblablement au cours d'un avortement spontané précédant la grossesse, car les sérums antérieurs ne contenaient pas d'anticorps anti-EPN. Le système immunitaire de la mère a alors été exposé à l'EPN héritée du père présente sur les syncytiotrophoblastes et les cellules fœtales.

Depuis la description du cas index, nous avons identifié deux autres familles aux Pays-Bas et en Belgique (cette dernière d'origine marocaine), comportant au moins un enfant né avec une GEM de même mécanisme [5]. Nous avons trouvé que les quatre autres mères immunisées de ces familles étaient aussi déficientes en EPN, ce qui nous a conduit à chercher des mutations dans le gène de l'EPN. Les exons 3

à 24 du gène *MME* codent une protéine membranaire constituée de 748 acides aminés, avec un court segment intracytoplasmique N-terminal, un seul domaine transmembranaire, et un large domaine extracellulaire C-terminal qui porte le site actif de l'enzyme. Dans les trois familles dans lesquelles la déficience en EPN est transmise selon un mode autosomique récessif (en accord avec la localisation du gène *MME* sur le chromosome 3), nous avons identifié deux mutations tronquantes, localisées respectivement dans les exons 7 et 15 du gène *MME*. Le gène muté est non fonctionnel, en raison d'une instabilité de l'ARN messager ou d'une destruction prématurée de la protéine [5].

La sévérité de la maladie rénale dépend de la réponse alloimmune : rôle des IgG1 et des IgG4

Bien que les mutations du gène *MME* aient été détectées chez toutes les mères immunisées, l'expression de la maladie rénale est variable chez les enfants. Sa sévérité est déterminée par le taux des anticorps maternels, et aussi par leurs sous-classes. Le développement de la maladie semble nécessiter la production d'anticorps maternels de sous-classe IgG1. Si seulement des IgG4 anti-EPN sont produites, aucune protéinurie n'est observée chez les nouveau-nés [5]. L'absence de manifestations rénales ne peut pas être expliquée par un défaut de passage transplacentaire des IgG4, car à la naissance, les concentrations fœtales et maternelles d'IgG4 et d'IgG3 sont équivalentes, alors que celles d'IgG1 sont plus élevées chez le fœtus et celles d'IgG2 plus importantes chez la mère [19]. Les sous-classes d'IgG interagissent de façon différente avec le complément. Les IgG1 et les IgG3 sont capables de fixer le C1q et d'activer la voie classique du complément, conduisant à la production de C5b-9, alors que les IgG4 n'activent pas le complément [20]. Ces résultats suggèrent que de petites quantités d'IgG1 sont nécessaires au développement d'une GEM « floride » avec protéinurie. Ils sont en accord avec les analyses les plus récentes de la répartition des sous-classes dans les GEM idiopathiques de l'adulte montrant, dans la plupart des cas, la prédominance d'IgG1 et d'IgG4 en proportion variable [21, résultats personnels].

L'alloimmunisation fœto-maternelle : une cause méconnue de néphropathie à l'adolescence ?

Après la naissance, l'insuffisance rénale et le syndrome néphrotique se sont rapidement amendés chez tous les enfants. Cependant, le patient le plus âgé, a développé de façon retardée à l'âge adulte, une insuffisance rénale chronique sévère nécessitant le recours à la transplantation. Cette insuffisance rénale est probablement la conséquence des lésions de GEM combinées à une réduction anténatale du nombre de néphrons liée au conflit immunologique. La production par les enfants d'anticorps dirigés contre les idiotypes ou allotypes portés par les IgG maternelles, a pu contribuer à la progression de la maladie rénale. Cette observation suggère qu'une maladie rénale anténatale liée à l'alloimmunisation anti-EPN, peut se manifester sous la forme d'une GEM ou d'une insuffisance rénale « idiopathique » à l'adolescence ou éventuellement plus tard.

Les sujets déficients en EPN n'ont pas de phénotype : des hommes différents des souris !

L'EPN appartient à une famille de métallopeptidases à zinc qui comporte 7 membres dans le génome humain. Les six individus identifiés déficients en EPN sont apparemment en bonne santé. L'absence de phénotype apparent était inattendue, car l'EPN est une ectoenzyme largement distribuée dans l'organisme, qui dégrade des hormones ou médiateurs locaux peptidiques ayant un rôle important comme le glucagon, les enképhalines, la substance P, la neurotensine, l'ocytocine, la bradykinine, les peptides natriurétiques, l'endothéline, ainsi que le peptide β -amyloïde qui est l'agent pathogène de la maladie d'Alzheimer [22]. L'absence de conséquences apparentes du déficit en EPN peut probablement être expliquée par une redondance fonctionnelle avec d'autres enzymes [23, 24]. Les souris déficientes en EPN ont un comportement différent, manifestant entre autres une hypotension, une sensibilité accrue au choc infectieux, une forme précoce de maladie d'Alzheimer, des tumeurs prostatiques, et un goût prononcé pour l'alcool [revue dans 25].

L'alloimmunisation : une nouvelle cause de maladie d'organe chez le nouveau-né et plus tard ?

Il est possible que des mutations tronquantes d'autres antigènes podocytaires que l'EPN, qui ne provoquent pas de symptômes chez les femmes porteuses, puissent conduire à une réaction alloimmune et au passage transplacentaire d'anticorps « néphritogènes ». De même, une immunisation dirigée contre des allovariants de protéine exprimée par les cellules placentaires chez la mère, et par les cellules glomérulaires chez le fœtus, pourrait provoquer une maladie rénale néonatale. Ce scénario pourrait aussi être impliqué dans des maladies pédiatriques affectant d'autres organes que le rein, et chez des patients développant une GEM de novo après transplantation de rein. Chez ces patients en effet, on ne détecte pas d'anticorps anti-PLA₂R dans la circulation, ni d'antigène PLA₂R dans les dépôts glomérulaires [résultats personnels]. Dans le cas de la transplantation rénale, un receveur asymptomatique déficient en EPN pourrait reconnaître comme étrangère l'EPN exprimée par les cellules rénales du donneur, et produire des anticorps anti-EPN qui se fixent sur l'EPN des podocytes du greffon.

Surveillance des femmes alloimmunisées contre l'endopeptidase neutre

La GEM anténatale alloimmune est une maladie sévère qui menace le pronostic vital et rénal du nouveau-né. Nous avons observé récemment que les nouveau-nés issus d'une seconde grossesse étaient plus sévèrement affectés, présentant à la naissance un syndrome néphrotique majeur, un défaut de fonctionnement du tubule proximal et une ostéopénie. L'aggravation des manifestations cliniques après une seconde grossesse n'était pas inattendue, étant annoncée par une augmentation majeure du titre des anticorps maternels anti-EPN résultant d'une nouvelle exposition à l'EPN placentaire. Contrairement à l'alloimmunisation fœto-maternelle

anti-Rhésus, l'immunisation anti-EPN survient lors de la première grossesse quand le système immunitaire maternel reconnaît l'EPN du placenta, et les grossesses ultérieures représentent des « rappels » d'immunisation [26].

Il est important d'identifier des familles à risque de glomérulonéphrite allo-immune, et de mettre au point des dosages d'anticorps. Dès lors qu'une famille est identifiée, la déficience en EPN peut être rapidement détectée chez les membres de la famille en mesurant l'activité enzymatique ou l'antigène dans les urines, et en recherchant les mutations du gène *MME*. La surveillance des grossesses chez les mères déficientes en EPN repose sur le dosage par ELISA des anticorps anti-EPN des sous-classes IgG1 et IgG4. Ces dosages peuvent utiliser l'EPN recombinante ou les alloépitopes de l'EPN contre lesquels les anticorps sont produits. En utilisant des segments de l'ADN complémentaire du gène *MME* humain exprimés dans les cellules d'insecte et des peptides chevauchants de 12 acides aminés du segment immunogène, nous avons identifié 2 épitopes linéaires immunodominants spécifiques des lymphocytes B des mères immunisées [27].

GLOMÉRULONÉPHRITE EXTRAMEMBRANEUSE PAR IMMUNISATION ANTI-SAB

Les études épidémiologiques ont montré que des composants nutritionnels pouvaient être des facteurs de risque d'autoimmunité chez des individus génétiquement prédisposés [28-30]. Le SAB est l'une des protéines du lait et de la viande qui peut traverser la barrière intestinale dans certaines circonstances, et induire la formation d'anticorps anti-SAB. Dans l'alimentation moderne, les ingrédients de la nourriture sont soumis à différentes conditions de préparation industrielle qui peuvent induire des modifications des protéines susceptibles d'altérer leur digestion et de permettre leur passage dans le sang [31-33]. Étant donné que les anticorps anti-SAB sont fréquents dans la population générale [34], nous avons fait l'hypothèse qu'ils pourraient être impliqués dans la pathogénie des GEM et reconnaître des épitopes spécifiques comme c'est le cas dans la polyarthrite rhumatoïde [35] et la sclérose en plaque [36]. Des taux élevés d'anticorps anti-SAB ont été trouvés chez 4 des 9 enfants (tous les 4 âgés de moins de 5 ans) et chez 7 des 41 adultes atteints de GEM « idiopathique » analysés consécutivement. Les anticorps réagissaient spécifiquement avec la SAB sans reconnaître la sérum albumine humaine (SAH). Ils contenaient une proportion variable d'IgG1 et d'IgG4, alors que les anticorps impliqués dans l'allergie aux protéines du lait sont de classe IgE. Tous les anticorps anti-SAB détectés chez les patients ayant une GEM reconnaissaient principalement un peptide de la SAB contenant 2 épitopes linéaires absents de la SAH [10].

La séquence de ce peptide incluant des résidus arginine et lysine qui sont des sites de clivage de la trypsine, fait envisager une dégradation complète dans le tube digestif ; le développement d'anticorps contre ce peptide suppose donc le passage dans le sang d'albumine bovine, non ou partiellement digérée. Effectivement, les 4 enfants avec des taux élevés d'anticorps anti-SAB avaient aussi des taux élevés de SAB circulante. Seuls 4 des 7 adultes avec des taux élevés d'anti-SAB avaient de la SAB circulante mais à une moindre concentration que les enfants. La SAB

immunopurifiée du sérum avait un poids moléculaire apparent légèrement plus faible que celui de la SAB native immunopurifiée dans les mêmes conditions.

Comme indiqué ci-dessus dans la description des modèles expérimentaux [11, 16], seule la SAB cationique, chargée positivement, peut s'attacher à la MBG et servir de cible pour la formation de complexes immuns *in situ*. Ces observations expérimentales faites au début des années 1980 [11, 16], nous ont conduit à analyser la charge de la SAB immunopurifiée à partir des sérums des patients par électrophorèse bidimensionnelle. Chez les enfants atteints de GEM, la SAB circulante migrerait dans la zone basique de pH, indiquant qu'elle portait des charges positives, alors que la SAB native migrerait dans les régions neutre ou faiblement acide. En revanche chez les adultes atteints de GEM, la SAB migrerait comme la SAB native.

Malgré la présence dans le sérum de SAB et d'anticorps anti-SAB à taux élevés, il n'a pas été possible de détecter des complexes immuns circulants par les méthodes usuelles mais ceci peut probablement s'expliquer par le fait que les complexes à IgG4 ne fixent pas le complément et sont de petite taille.

En raison de la présence dans la circulation d'anticorps anti-SAB et de SAB cationique chez 4 des 5 enfants de moins de 5 ans atteints de GEM idiopathique, nous avons recherché la SAB dans les dépôts glomérulaires. Celle-ci n'a été détectée que chez les enfants ayant à la fois l'antigène SAB cationique et l'anticorps circulant. Chez ces enfants, les dépôts ne contenaient pas de PLA₂R. En revanche, la SAB n'était pas détectée chez les patients ayant une GEM idiopathique en l'absence de SAB cationique circulante et dans les biopsies d'autres néphropathies. La SAB et les IgG1 et IgG4 ont pu être colocalisées au sein des dépôts par microscopie confocale dans de nombreux segments des parois capillaires. En outre, les Ig éluées des dépôts glomérulaires reconnaissent la SAB, et non la SAH, et cette activité était portée par les IgG1 et les IgG4.

L'étude chronologique des taux d'anticorps anti-SAB et d'antigène SAB chez les enfants, a montré que l'épisode initial de syndrome néphrotique et les rechutes étaient associés à des taux élevés d'antigène et d'anticorps, alors que les rémissions s'accompagnaient de leur franche diminution, voire de leur disparition.

Nous avons ainsi identifié une nouvelle cause de GEM chez l'enfant de moins de 5 ans qui est la contrepartie humaine du modèle de Border et coll. [11]. Ces observations suggèrent fortement que le scénario de l'antigène « planté » établi chez l'animal s'applique aussi à la pathologie humaine. L'exposition à la SAB est commune ; chez le jeune enfant, le lait de vache est la principale source de SAB. De petites quantités de protéines alimentaires sont absorbées sous forme non digérée ou partiellement digérée chez les sujets sains [37, 38]. Les anticorps de classe IgG contre les protéines du lait de vache sont présents chez presque tous les enfants exposés au lait de vache et sont considérés comme « physiologiques » [39]. Cependant la détection très fréquente des anticorps anti-SAB dans les sérums humains, n'est généralement associée à aucun évènement clinique, en dehors de l'allergie aux protéines du lait due aux IgE. Ces observations suggèrent que des facteurs supplémentaires interviennent dans l'induction d'une GEM.

Le premier facteur réside dans les propriétés physicochimiques de l'antigène et la quantité d'antigène circulant. La cause de la formation de SAB cationique chez nos patients reste inexpliquée. On peut évoquer des différences dans la préparation industrielle des laits et la composition de la flore intestinale qui pourraient conduire à des modifications pathologiques de la SAB. On sait, en effet, que le traitement

par la chaleur de le la SAB induit la dénaturation de la protéine qu'est à l'origine d'une protéolyse réduite [40], dans les conditions de pH relativement élevé (3-4) de l'estomac des jeunes enfants [41]. En outre, la quantité de SAB intacte qui entre dans la circulation est vraisemblablement plus grande chez le jeune enfant avant la maturation complète du tractus gastro-intestinal et l'établissement définitif de la fonction de barrière [42, 43]. Cette quantité peut s'accroître pendant les épisodes de gastroentérite [44].

Le second facteur réside dans la prédominance de la réponse immune de type T-helper-2 (Th2) qui conduit à la production d'IgG4, à la fois dans la maladie humaine et les modèles animaux [45, 46]. La GEM induite par la SAB est également caractérisée par la production d'IgG4 anti-SAB. Bien que l'interaction directe de la SAB cationique avec les charges anioniques de la paroi capillaire glomérulaire soit vraisemblablement l'élément déclenchant, il est possible que les complexes immuns à IgG4 soient secondairement impliqués à cause de leur demi-vie longue et de leur potentielle dissociation au niveau de l'endothélium glomérulaire due à la plus faible affinité des IgG4 pour les antigènes [47].

L'identification d'un antigène alimentaire de l'environnement comme étant la cause de GEM du jeune enfant a d'importantes conséquences diagnostiques et thérapeutiques. Les GEM « idiopathiques » représentant une entité rare dans la population pédiatrique, rendant compte de 2 % des biopsies rénales, et leur traitement est difficile [48, 49]. Dans l'attente d'études épidémiologiques plus que jamais nécessaires, l'absorption de SAB alimentaire modifiée et l'immunisation contre la SAB doivent être considérées comme une cause majeure de GEM chez le jeune enfant, et conduire à la recherche de SAB dans les dépôts immuns. Si la SAB est mise en évidence, il paraît logique d'éliminer la SAB du régime avant d'utiliser des thérapies immunosuppressives plus agressives et potentiellement toxiques. D'une façon plus générale, nos observations suggèrent que d'autres antigènes alimentaires pourraient être impliqués dans le développement des GEM.

GLOMÉRULONÉPHRITES EXTRAMEMBRANEUSES IDIOPATHIQUES DE L'ADULTE

Les connaissances sur les GEM idiopathiques de l'adulte ont bénéficié d'une avancée importante avec l'identification en 2009 du récepteur de type M de la phospholipase A₂ (PLA₂R1) par Beck et coll. [8]. Ces travaux et leurs implications cliniques sont décrits dans le chapitre suivant (p. 143). Notre contribution dans ce domaine a porté sur l'analyse de la prédisposition génétique, l'étude de corrélations entre la sérologie et l'immunohistologie, et l'identification de nouveaux antigènes.

Prédisposition génétique à la GEM idiopathique

L'association de la GEM idiopathique à certains gènes du système de compatibilité tissulaire HLA a été démontrée par les études sérologiques et de typage moléculaire [revue dans 50], en particulier avec des allèles HLA-DR chez les Caucasiens [51-55]. Dès 1979, une association particulière avait été mise en évidence avec HLA-DRW3 [51].

Nous avons utilisé une autre approche reposant sur l'étude de plus de 280 000 marqueurs individuels de polymorphisme (SNP, *single nucleotide polymorphism*) dans l'ensemble du génome, dénommée étude pangénomique ou *Genome Wide Association Study* (GWAS). Pour réaliser cette étude, nous avons formé un consortium avec les Britanniques et les Hollandais. L'étude a porté sur 75 cas français, 146 cas hollandais et 335 cas britanniques tous d'origine caucasienne. Les cas ont été comparés à des contrôles (157 Français, 1832 Hollandais et 349 Britanniques) ethniquement appariés [56]. Dans une analyse globale portant sur les 556 cas (398 hommes), nous avons identifié des allèles à deux loci associés de façon très significative avec la GEM idiopathique. Le locus 2q24 sur le chromosome 2 contient le gène *PLA₂R1* ($p = 8,6 \times 10^{-29}$), une cible majeure de la réponse auto-immune. Le locus 6p21 sur le chromosome 6 contient le gène *HLA-DQA1* ($p = 8,0 \times 10^{-93}$) codant un antigène de classe II du complexe HLA des antigènes leucocytaires humains, associé à l'induction de la réponse immune (présentation de l'antigène). L'association à HLA-DQA1 était significative dans les trois populations : $p = 1,8 \times 10^{-9}$; $5,6 \times 10^{-27}$; et $5,2 \times 10^{-36}$ dans les populations française, hollandaise et britannique, respectivement. Le risque relatif (« odds ratio ») de développer une GEM idiopathique en cas d'homozygotie pour les deux allèles de prédisposition est de 78,5 (34,6 – 178,2, 95 % d'intervalle de confiance).

La description de ces associations génétiques a d'importantes implications. Nos résultats suggèrent que des variations de séquence dans HLA-DQA1 et PLA₂R1 sont en partie responsables du développement de la GEM idiopathique chez les Caucasiens. Ils étayaient le rôle de PLA₂R1 comme antigène cible des GEM idiopathiques au terme d'une étude pangénomique systématique et non biaisée. Cependant, notre étude montre également une association statistique plus forte avec HLA qu'avec PLA₂R1. Ainsi, le risque conféré par les allèles HLA-DQA1 paraît plus élevé que le risque conféré par les allèles PLA₂R1. Une explication possible de cette discordance est le fait que PLA₂R1 n'est pas le seul antigène cible dans les GEM idiopathiques de l'adulte, mais que HLA-DQA1 pourrait aussi faciliter le développement d'une réponse immune dirigée contre d'autres antigènes. Il est à noter qu'aucun SNP dans les gènes de l'aldose réductase (*AKR1B1*, chromosome 7q33) et de la superoxyde dismutase 2 (*SOD2*, chromosome 6q25.3), deux autoantigènes non exprimés dans les glomérules normaux et récemment impliqués dans les GEM idiopathiques [9], n'a montré d'association significative.

Étude sérologique et immunopathologique des anticorps anti-PLA₂R

La mise en évidence d'anticorps anti-PLA₂R dans le sérum de patients atteints de GEM idiopathique par Beck et coll. [8], conduit à poser des questions importantes concernant leur prévalence et leur rôle éventuel de biomarqueur. Dans une série de 42 patients consécutifs atteints de GEM idiopathique, nous avons analysé la présence de PLA₂R dans les biopsies et d'anticorps anti-PLA₂R dans le sérum prélevé au moment de la biopsie et avant traitement, par deux techniques différentes et parfaitement concordantes (Western blot et immunofluorescence sur cellules transfectées). Nous avons montré que la sensibilité des tests sérologiques et de l'étude immunohistochimique sur les biopsies était de 57 % et 74 %, respectivement [57]. Vingt-et-un patients avec des autoanticorps circulants anti-PLA₂R avaient des dépôts

glomérulaires de PLA₂R. Cependant, nous avons trouvé 3 patients avec des taux élevés d'anticorps sériques (dilution 1 : 3 000) qui n'avaient pas de PLA₂R dans les dépôts immuns. Ces cas suggèrent que les anticorps n'étaient pas néphritogènes, ou que les épitopes n'étaient pas, ou peu accessibles, au moment de la biopsie rénale. Dix-huit patients n'avaient pas d'anticorps anti-PLA₂R détectable même à la dilution de 1/10, bien que chez 10 d'entre eux, l'antigène PLA₂R était détecté dans les dépôts immuns. Cette discordance peut s'expliquer par l'élimination rapide des anticorps du sang et leur dépôt dans les glomérules, ou par un recours tardif au néphrologue à un moment où la protéinurie persistait en raison de changements structurels irréversibles dans la paroi du capillaire glomérulaire.

Ces observations montrent que l'évaluation conjointe des autoanticorps circulants anti-PLA₂R et de PLA₂R dans les biopsies peut permettre de mieux classer les patients en différents groupes qui ont potentiellement des implications pronostiques et thérapeutiques. L'absence d'anticorps circulants anti-PLA₂R au moment de la réalisation de la biopsie rénale n'écarte pas une GEM associée à PLA₂R.

La présence possible d'anticorps anti-PLA₂R dans les GEM secondaires reste controversée. Aucun patient atteint de GEM secondaire n'avait d'anticorps anti-PLA₂R dans la série de Beck et coll. [8]. Nous avons observé un cas de GEM précédant de peu le diagnostic de sarcoïdose et le développement d'une néphrite interstitielle granulomateuse, dans lequel des anticorps anti-PLA₂R et l'antigène PLA₂R ont été mis en évidence dans le sérum et la biopsie rénale, respectivement [58]. Bien qu'il puisse s'agir d'une coïncidence de 2 maladies, la rémission du syndrome néphrotique sous corticoïdes plaide en faveur d'un lien de causalité. Cette observation illustre aussi la difficulté croissante de distinguer entre formes primitives et secondaires. L'analyse d'un nombre suffisamment grand de cas de GEM « sarcoïdosome » permettra d'éclairer cette question.

À la recherche d'autres autoanticorps dans les GEM idiopathiques

Les anticorps anti-PLA₂R ne sont pas détectés chez 20 à 30 % des patients atteints de GEM idiopathique, ce qui suggère l'implication d'autres autoanticorps témoignant de l'hétérogénéité de la maladie. Il est également envisageable que les tests utilisés pour la détection des anticorps anti-PLA₂R manquent de sensibilité, mais dans notre expérience, l'antigène PLA₂R n'est mis en évidence dans les dépôts que dans 74 % des biopsies [57]. Il est possible que le processus auto-immun cible plus d'un antigène dans les phases initiales ou plus tardives de la maladie.

Afin de tester l'implication éventuelle de l'EPN dans les GEM idiopathiques, nous avons récemment développé un ELISA très sensible utilisant de l'EPN humaine recombinante, qui a révélé des taux faibles mais significatifs dans une proportion substantielle de patients adultes atteints de cette pathologie, alors que les patients présentant une autre néphropathie et les contrôles sains étaient négatifs. En outre, l'EPN a pu être identifiée dans les dépôts extramembraneux par microscopie confocale [Hanna Debiec et Pierre Ronco, résultats non publiés].

La présence de PLA₂R et de l'EPN dans les dépôts n'exclut pas un rôle pour d'autres antigènes. On peut, en effet, faire l'hypothèse que faisant suite aux lésions podocytaires induites par le complexe d'attaque membranaire du complément C5b-9, des protéines intracellulaires et des épitopes cryptiques soient exposés, et soient potentiellement à

l'origine d'une seconde vague d'immunisation. Les sérums de patients analysés par Western blot en utilisant des lysats de podocytes humains, montrent une variété de profil d'anticorps que ne sont pas observés dans les sérums contrôles. Nous avons ainsi identifié plusieurs protéines dont la réactivité avec les sérums des patients a été confirmée avec la protéine recombinante [Hanna Debiec et Pierre Ronco, résultats non publiés]. En utilisant une approche similaire, Prunotto et coll. [9] ont identifié l'aldose réductase et la superoxyde dismutase de type 2 (SOD2) comme cible potentielle d'autoanticorps. Toutefois ces antigènes ne sont pas exprimés sur les podocytes normaux, mais uniquement sur les podocytes de GEM idiopathique, où ils pourraient être induits par les dérivés réactifs de l'oxygène. On ne sait pas actuellement si les anticorps dirigés contre ces protéines sont néphritogènes et impliqués dans la perpétuation de la maladie.

CONCLUSION

Pendant les 10 dernières années, les connaissances sur les mécanismes des GEM humaines ont progressé considérablement avec l'identification successive de trois antigènes majeurs : l'EPN, PLA₂R et la SAB. Ces avancées vont déboucher sur des progrès importants dans le diagnostic étiologique et la prise en charge des patients atteints de GEM. L'identification des épitopes impliqués dans la réponse immune et le développement des lésions glomérulaires peut permettre d'envisager une immunomodulation spécifique.

L'histoire continue...

BIBLIOGRAPHIE

1. GLASSOCK RJ. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. *Semin Nephrol*, 2003, 23 : 324-332.
2. POLANCO N, GUTIÉRREZ E, COVARSI A et al. Spontaneous remission of nephrotic syndrome in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21 : 697-704.
3. WALDMAN M, AUSTIN HA 3rd. Controversies in the treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Nat Rev Nephrol*, 2009, 5 : 469-479.
4. DEBIEC H, GUIGNON V, MOUGENOT B et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med*, 2002, 346 : 2053-2060.
5. DEBIEC H, NAUTA J, COULET F et al. Role of Truncating mutations in MME gene in fetomaternal allo-immunization and neonatal glomerulopathies. *Lancet*, 2004, 364 : 1252-1259.
6. KERJASCHKI D, FARQUHAR MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci*, 1982, 79 : 5557-5561.
7. KERJASCHKI D, FARQUHAR MG. Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (gp330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med*, 1983, 157 : 667-686.
8. BECK LH Jr, BONEGIO RG, LAMBEAU G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*, 2009, 361 : 11-21.
9. PRUNOTTO M, CARNEVALI ML, CANDIANO G et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21 : 507-519.
10. DEBIEC H, LEFEU F, KEMPER M et al. Early Childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin. *N Engl J Med*, 2011 (sous presse).

11. BORDER WA, WARD HJ, KAMIL ES et al. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen. *J Clin Invest*, 1982, *69* : 451-461.
12. VAN DAMME BJ, FLEUREN GJ, BAKKER WW et al. Experimental glomerulonephritis in the rat induced by antibodies directed against tubular antigens. V. Fixed glomerular antigens in the pathogenesis of heterologous immune complex glomerulonephritis. *Lab Invest*, 1978, *38* : 502-510.
13. COUSER WG, STEINMULLER DR, STILMANT MM et al. Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney. *J Clin Invest*, 1978, *62* : 1275-1287.
14. TRAMONTANO A, KNIGHT T, VIZZUSO D et al. Nested N-terminal megalin fragments induce high-titer autoantibody and attenuated Heymann nephritis. *J Am Soc Nephrol*, 2006, *17* : 1979-1985.
15. ALLEGRI L, BRIANTI E, CHATELET F et al. Polyvalent antigen-antibody interactions are required for the formation of electron-dense immune deposits in passive Heymann's nephritis. *Am J Pathol*, 1986, *125* : 1-6.
16. ADLER SG, WANG H, WARD HJ et al. Electrical charge. Its role in the pathogenesis and prevention of experimental membranous nephropathy in the rabbit. *J Clin Invest*, 1983, *71* : 487-499.
17. RONCO P, ARDAILLOU N, VERROUST P et al. Pathophysiology of the podocyte : A target and a major player in glomerulonephritis. *Adv Nephrol Necker Hosp*, 1994, *23* : 91-131.
18. RONCO P, DEBIEC H. Molecular dissection of target antigens and nephritogenic antibodies in membranous nephropathy : towards epitope-driven therapies. *J Am Soc Nephrol*, 2006, *17* : 1772-1724.
19. SIMISTER NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*, 2003, *21* : 3365-3369.
20. CLARK MR. IgG effector mechanisms. *Chem Immunol*, 1997, *65* : 88-110.
21. KUROKI A, SHIBATA T, HONDA H et al. Glomerular and serum IgG subclasses in diffuse proliferative lupus nephritis, membranous lupus nephritis, and idiopathic membranous nephropathy. *Intern Med*, 2002, *41* : 936-942.
22. TURNER AJ, BROWN CD, CARSON JA et al. The neprilysin family in health and disease. *Adv Exp Med Biol*, 2000, *477* : 229-240.
23. IKEDA K, EMOTO N, RAHARIO SB et al. Molecular identification and characterization of novel membrane-bound metalloprotease, the soluble secreted form of which hydrolyzes a variety of vasoactive peptides. *J Biol Chem*, 1999, *274* : 32469-32477.
24. BONVOULOIR N, LEMIEUX N, CRINE P et al. Molecular cloning, tissue distribution, and chromosomal localization of MMEL2, a gene coding for a novel human member of the neutral endopeptidase-24.11 family. *DNA Cell Biol*, 2001, *20* : 493-498.
25. RONCO P, DEBIEC H. Molecular pathomechanisms of membranous nephropathy : from Heymann nephritis to alloimmunization. *J Am Soc Nephrol*, 2005, *16* : 1205-1213.
26. NORTIER JL, DEBIEC H, TOURNAY Y et al. Neonatal disease in neutral endopeptidase alloimmunization : lessons for immunological monitoring. *Pediatr Nephrol*, 2006, *1* : 1399-1405.
27. DEBIEC H, RONCO P. Fetomaternal alloimmunization with antenatal glomerulopathies. *Ann NY Acad Sci*, 2007, *1110* : 559-566.
28. MALOSSE D, PERRON H, SASCO A et al. Correlation between milk and dairy product consumption and multiple sclerosis prevalence : a worldwide study. *Neuroepidemiology*, 1992, *11* : 304-312.
29. BRIANI C, SAMAROO D, ALAEDINI A. Celiac disease : from gluten to autoimmunity. *Autoimmune Rev*, 2008, *7* : 644-650.
30. LEMPAINEN J, VAARALA O, MÄKELÄ M et al. Interplay between PTPN22 C1858T polymorphism and cow's milk formula exposure in type 1 diabetes. *J Autoimmun*, 2009, *33* : 155-164.
31. DAVIS PJ, WILLIAMS SC. Protein modification by thermal processing. *Allergy*, 1998, *53* : 102-105.
32. SANCHEZ C, FREMONT S. Consequences of heat treatment and processing of food on the structure and allergenicity of component proteins. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, 2003, *43* : 13-20.
33. SATHE SK, TEUBER SS, ROUX KH. Effects of food processing on the stability of food allergens. *Biotechnol Adv*, 2005, *23* : 423-429.
34. MOGUES T, LI J, COBURN J et al. IgG antibodies against bovine serum albumin in humans—their prevalence and response to exposure to bovine serum albumin. *J Immunol Methods*, 2005, *300* : 1-11.

35. PÉREZ-MACEDA B, LÓPEZ-BOTE JP, LANGA C et al. Antibodies to dietary antigens in rheumatoid arthritis--possible molecular mimicry mechanism. *Clin Chim Acta*, 1991, *203* : 153-165.
36. WINER S, ASTSATUROV I, CHEUNG RK et al. T cells of multiple sclerosis patients target a common environmental peptide that causes encephalitis in mice. *J Immunol*, 2001, *166* : 4751-4756.
37. STROBEL SM, MOWAT A. Immune response to dietary antigens : oral tolerance. *Immunol Today*, 1998, *19* : 173-180.
38. HUSBY S. Normal immune responses to ingested foods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2000, *30* : S13-19.
39. KLETTER B, GERY I, FREIER S et al. Immune responses of normal infants to cow milk. I. Antibody type and kinetics of production. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1971, *40* : 656-666.
40. ALTING AC, MEIJER RJ, VAN BERESTEIJN EC. Incomplete elimination of the ABBOS epitope of bovine serum albumin under simulated gastrointestinal conditions of infants. *Diabetes Care*, 1997, *20* : 875-880.
41. SCHMIDT DG, MEIJER RJ, SLANGEN CJ et al Raising the pH of the pepsin-catalysed hydrolysis of bovine whey proteins increases the antigenicity of the hydrolysates, 1995, *25* : 1007-1017.
42. VAN ELBURG RM, FETTER WP, BUNKERS CM, et al. Intestinal permeability in relation to birth weight and gestational and postnatal age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003, *88* : F52-F55.
43. SREEDHARAN R, MEHTA DI. Gastrointestinal tract. *Pediatrics*, 2004, *113* : 1044-1050.
44. TORENTE F, MURCH S. Food allergic enteropathy. In : Walker AW, Goulet O, Kleinman RE et al editors. *Pediatric gastrointestinal disease*. 4th ed. Hamilton, ON, Canada : BC Decker ; 2004, p. 944-958.
45. TIPPING PG, KITCHING AR. Glomerulonephritis, Th1 and Th2 : what's new? *Clin Exp Immunol*, 2005, *142* : 207-215.
46. KUROKI A, IYODA M, SHIBATA T et al. Th2 cytokines increase and stimulate B cells to produce IgG4 in idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int*, 2005, *68* : 302-310.
47. OLIVEIRA DB. Membranous nephropathy : an IgG4-mediated disease. *Lancet*, 1998, *351* : 670-671.
48. CHEN JS, CHEN A, CHANG LC et al. Mouse model of membranous nephropathy induced by cationic bovine serum albumin : antigen dose-response relations and strain differences. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, *19* : 2721-2728.
49. MENON S, VALENTINI RP. Membranous nephropathy in children : clinical presentation. *Pediatr Nephrol*, 2010, *2* : 1419-1428.
50. POWIS SH. The genetics of glomerulonephritis and systemic disorders affecting the kidney. In : F Flinter, E Maher, A Saggat-Malik. *The genetics of renal disease*. Oxford, UK, Oxford University Press, 2003 : 417-454.
51. KLOUDA PT, MANOS J, ACHESON EJ et al. Strong association between idiopathic membranous nephropathy and HLA-DRW3. *Lancet*, 1979, *2* : 770-771.
52. VAUGHAN RW, DEMAINE AG, WELSH KI. A DQA1 allele is strongly associated with idiopathic membranous nephropathy. *Tissue Antigens*, 1989, *34* : 261-269.
53. BERTHOUX FC, BERTHOUX P, HASSAN AA et al. [Immunogenetics of primary membranous glomerulonephritis]. *Presse Med*, 1990, *19* : 990-993.
54. OGAHARA S, NAITO S, ABE K et al. Analysis of HLA class II genes in Japanese patients with idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int*, 1992, *41* : 175-182.
55. DYER PA, SHORT CD, CLARKE EA et al. HLA antigen and gene polymorphisms and haplotypes established by family studies in membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 1992, *7 (Suppl 1)* :42-47.
56. STANESCU HC, ARCOS-BURGOS M, MEDLAR A et al. Risk HLA-DQA1 and PLA2R1 Alleles and Idiopathic Membranous Nephropathy. *N Engl J Med*, 2011, *364* : 616-626.
57. DEBIEC H, RONCO P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med*, 2011, *364* : 689-690.
58. KNEHTL M, DEBIEC H, KAMGANG P et al. A case of phospholipase A(2) receptor-positive membranous nephropathy preceding sarcoid-associated granulomatous tubulointerstitial nephritis. *Am J Kidney Dis*, 2011, *57* : 140-143.