

COMMENT J'EXPLORE...

les HLA de classe II par ultrastructure dans la nécrolyse épidermique toxique

G.E. PIÉRARD (1, 2), A. DOWLATI (3), C. PIÉRARD-FRANCHIMONT (4, 5), P. PAQUET (6), P. DELVENNE (7)

RÉSUMÉ : La nécrolyse épidermique toxique (NET, syndrome de Lyell) est une toxidermie paroxystique grave dont les mécanismes inducteurs restent mal élucidés. Les glycoprotéines HLA ont été potentiellement impliquées dans ce processus. Leur étude a bénéficié des méthodes biomoléculaires qui suggèrent des interactions spécifiques entre certains médicaments ou leurs métabolites et certains HLA en fonction du groupe ethnique du patient atteint de NET. La microscopie électronique, par la méthode «immunogold» afin d'évaluer les HLA-DR, n'a pas révélé de différences notoires dans leur distribution sur la paroi de cellules de Langerhans entre la phase initiale et celle de résolution de 5 cas de NET.

MOTS-CLÉS : *Nécrolyse épidermique toxique - HLA - Lymphocyte T - Toxidermie - Toxicité médicamenteuse - Syndrome de Lyell*

HOW I EXPLORE.... HLA CLASS II BY ULTRASTRUCTURE IN TOXIC EPIDERMAL NECROLYSIS

SUMMARY : Toxic epidermal necrolysis (TEN, Lyell syndrome) is a severe paroxysmic drug reaction whose inductive mechanisms remain poorly understood. The HLA glycoproteins are possibly involved in the disease process. Such investigations rely on biomolecular methods, and suggest specific interactions between some drugs or their metabolites and some HLA groups according to ethnicity of the TEN patients. Electron microscopy following the immunogold method for revealing HLA-DR did not disclose any evidence for distinguishing distinct patterns on Langerhans cell membrane between the initial and the resolution phases of TEN.

KEYWORDS : *Toxic epidermal necrolysis - HLA - T lymphocyte - Drug eruption - Drug toxicity - Lyell syndrome*

INTRODUCTION

La nécrolyse épidermique toxique (NET), anciennement appelée syndrome de Lyell, est une toxidermie grave qui correspond à une réaction médicamenteuse cutanée indésirable atteignant également les muqueuses, en particulier celles de la bouche, des yeux et d'organes internes (1-5). Les lésions aiguës se manifestent par une destruction apoptotique et nécrotique des kératinocytes de l'épiderme (6, 7). Un infiltrat inflammatoire reste très discret. Les mécanismes pathogéniques en cause sont mal connus (8, 9). Certains auteurs ont démontré une association de la maladie avec certains allèles particuliers des groupes HLA (Human Leukocyte Antigen) dans la population chinoise Han et certaines autres populations asiatiques. Le risque est particulièrement accru lors la prise de carbamazépine.

Les molécules HLA sont des glycoprotéines exprimées sur de très nombreuses cellules nucléées (10-13). La région HLA, correspondant au MHC (Major Histocompatibility Com-

plex), se situe sur le bras court du chromosome 6 en position 6 p 21. Il existe 3 locus des HLA de classe I qui sont HLA-A, HLA-B et HLA-Cw, et 5 locus de classe II qui sont HLA-DR, HLA-Dq, HLA-DP, HLA-DM et HLA-Do. Un grand polymorphisme est présent au niveau des molécules HLA. De nombreux allèles de chaque locus contribuent à définir un unique typage pour les cellules de chaque individu. Ceci permet au système immunitaire de chaque individu de distinguer ce qui lui est personnel de ce qui lui est étranger.

IMPACT CLINIQUE DU SYSTÈME HLA

Le système HLA est particulièrement impliqué dans la compatibilité des transplantations de tissus humains, particulièrement le rein et la moelle où HLA-A, -D et -DR doivent être compatibles entre le donneur et le receveur. Les molécules MHC de classe I, complexées à certains peptides agissent comme des substrats pour activer les cellules T CD8+. Les molécules MHC de classe II, à la surface de cellules présentatrices d'antigènes, reconnaissent les récepteurs des cellules T helper CD4+. Dès lors, les molécules MHC sont centrales pour les réponses immunes adaptatives. Par ailleurs, ces molécules interviennent dans la pathogénie de diverses affections autoimmunes et dans des maladies inflammatoires chroniques. Certains haplotypes HLA sont plus fréquents dans le psoriasis, l'arthropathie psoriasique, le pemphigus, la dermatite herpétiforme, la maladie

(1) Chargé de Cours honoraire, (4) Professeur adjoint, (6) Collaborateur clinique, Laboratoire de Bioingénierie et d'Imagerie cutanée, Département des Sciences Cliniques, Université de Liège, Belgique.

(2) Professeur honoraire, Université de Franche-Comté, Besançon, France.

(3) Professeur, Département d'Hématologie et d'Oncologie, Hôpital Universitaire, Cleveland, USA.

(5) Dermatologue, Service de Dermatologie, CHR hutois, Huy, Belgique.

(7) Professeur ordinaire, Chef de Service, CHU de Liège, Service de Dermatopathologie Unilab Lg, Liège, Belgique.

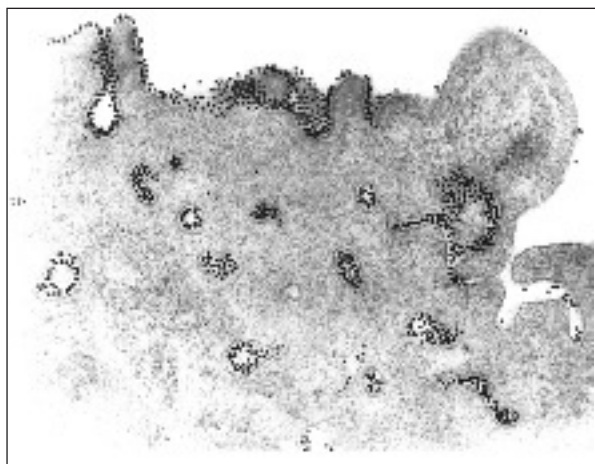


Figure 1. HLA-DR à la surface cellulaire chez un patient atteint de NET débutante («Immunogold», x 250)

de Behçet,... Le mécanisme moléculaire par lequel le polymorphisme des HLA confère une susceptibilité particulière à certaines affections reste inconnu. Il en est de même en ce qui concerne la nature des autoantigènes impliqués dans le processus pathogénique.

LES GROUPES HLA ET LA NET

Des études de pharmacogénomique ont démontré une corrélation entre des gènes HLA et la NET (10-13). La pathobiologie de la NET serait ainsi liée au contrôle par les MHC de la réponse immunitaire aux médicaments (14). Ceux-ci et leurs métabolites représentent de petites entités chimiques et sont vraisemblablement incapables de provoquer, par eux-mêmes, une réaction immune.

Une hypothèse de l'haptène a été proposée pour expliquer la réaction médicamenteuse. Des métabolites antigéniques du médicament impliqué se lieraient de manière covalente à certains épitopes de peptides intracellulaires, en particulier dans des kératinocytes humains normaux (15). Ces structures moléculaires créeraient des composés toxiques ou des néoantigènes reconnus par le système immunitaire. Ils s'accumuleraient à un haut niveau pendant environ 7 à 14 jours précédant la NET. Le seuil de toxicité du composé toxique est supposé être variable parmi les individus atteints, en partie dépendant de mécanismes de détoxification. Certains de ces composés forment un antigène endogène qui se combine à la surface du kératinocyte avec des molécules MHC de classe I aboutissant à une reconnaissance par les lymphocytes T CD8 + et à leur articulation.

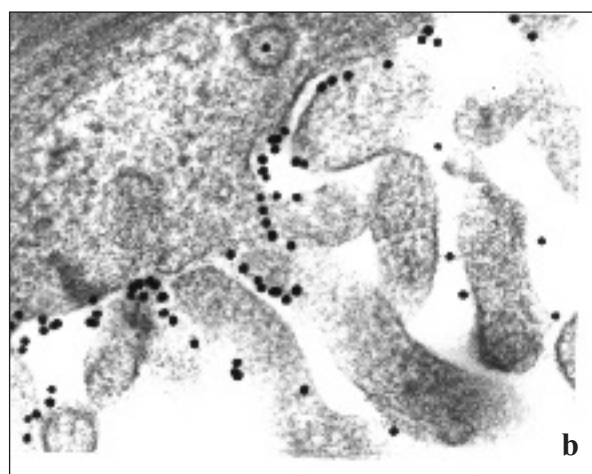
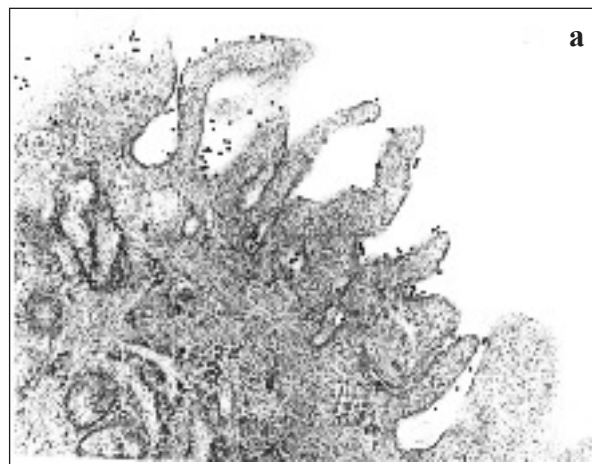


Figure 2. HLA-DR à la surface cellulaire chez un NET patient en voie de guérison («Immunogold», (a) x 500; (b) x 1.000)

Une autre hypothèse repose sur le concept p-i basé sur l'interaction directe pharmacologique non covalente de médicaments avec des molécules MHC (16, 17). Cette hypothèse pourrait s'appliquer à la NET (18) dans le cas de la carbamazépine et de ses métabolites. L'hypersensibilité médicamenteuse pourrait être stimulée par les HLA-B et les TCR (Tumor Cell Receptor). Tant l'hypothèse de l'haptène que celle de p-i considèrent que le TEN implique l'interaction de molécules MHC, ainsi que les TCR et des antigènes multiples de médicaments (19).

En relation avec les sulfamides inducteurs d'une TEN chez les Caucasiens, des associations ont été établies avec les HLA-A 29 et -B12, ainsi qu'avec HLB-B12 et -DR7. En revanche, le TEN à l'oxicam apparaît lié à HLA-B12 et -DR7. La situation est différente chez les patients Taiwanais chez qui une forte association existe avec HLA-B *1502 et -B*5801 dans le TEN induit par la carbama-

zépine (20) et l'allopurinol (21). Par ailleurs, HLB-A* 0206 est étroitement associé aux complications oculaires du TEN chez des Japonais (22). Comme ces résultats n'ont pas été confirmés chez des patients Caucasiens, ces modifications génétiques de la NET ne semblent pas universelles, et l'ethnie semble exercer une importance majeure (23, 24). La grande spécificité de certains marqueurs HLA reste une base solide pour développer des tests individuels évaluant le risque de TEN dans différents groupes ethniques.

Au-delà de l'implication du système MHC, les fonctions des lymphocytes T ou une sélection dans le répertoire TCR pourraient également participer aux causes de la NET. Des variations dans l'expression des Toll-like receptor 3 pourraient également être associées à la NET (4).

LE TEN ET L'ULTRASTRUCTURE DES HLA

La méthode de succion de l'épiderme a été mise en œuvre pour détacher de petites zones de l'épiderme de 5 patients caucasiens présentant les signes précoces d'une NET attribuée à la carbamazépine. Les mêmes prélèvements ont été réalisés deux semaines plus tard, lors de la phase de guérison. Les échantillons ont permis de réaliser des cultures de cellules de Langerhans en milieu stérile et d'y appliquer la méthode «immunogold» (25-27) afin de détecter les molécules HLA-DR.

Les sites identifiés étaient tous à la surface des cellules et ne semblaient pas affectés pour le stade de la NET (Figures 1, 2). La densité des sites HLA-DR était uniforme sur toute la surface de chaque cellule de Langerhans, mais pouvait différer selon le moment du prélèvement et selon le patient. Nous n'avons pas remarqué de corrélation entre la densité de ces sites et la sévérité clinique des lésions cutanées.

CONCLUSION

Dans de nombreuses maladies, une association de classes de MHC représente le principal indice d'une influence génétique.

Dans notre petit groupe de patients atteints de NET, nous avons pu visualiser l'ultrastructure de la distribution des sites HLA-DR sur les cellules présentatrices d'antigène issues de l'épiderme humain en des périodes distinctes de la NET. La distribution des sites HLA-DR

est toujours apparue homogène, mais variable selon les individus. Une relation causale directe n'a pas pu être établie entre les sites HLA-DR exprimés par les cellules de Langerhans et le pathomécanisme de la NET. Ces évaluations réalisées en culture cellulaire ne sont peut-être pas révélatrices de la situation *in vivo*.

BIBLIOGRAPHIE

1. Piérard GE.— Toxic epidermal necrolysis. *Curr Drug Saf*, 2012, **7**, 331.
2. Piérard GE, Paquet P.— Facing up to toxic epidermal necrolysis. *Expert Opin Pharmacother*, 2010, **11**, 2443-2446.
3. Hermanns-Lê T, Piérard-Franchimont C, Piérard GE.— Le spectre des toxidermies. *Rev Med Liege*, 2013, **68**, 44-50.
4. Piérard GE, Paquet P, Jennes S, Franchimont C.— The conundrum of toxic epidermal necrolysis. *Publ Nov Sci Biomed Hauppauge*, 2015, 1-162.
5. Piérard GE, Paquet P, Hermanns-Lê T, et al.— La nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell), une urgence dramatique d'origine médicamenteuse. *Rev Med Liege*, sous presse, 2016.
6. Paquet P, Piérard GE.— Toxic epidermal necrolysis: revisiting the tentative link between early apoptosis and late necrosis. *Int J Mol Med*, 2007, **19**, 3-10.
7. Paquet P, Piérard GE.— New insights in toxic epidermal necrolysis (Lyell's syndrome): clinical considerations, pathobiology and targeted treatments revisited. *Drug Saf*, 2010, **33**, 189-212.
8. Paquet P, Delvenne P, Piérard GE.— Drug interactions with normal and TEN epidermal keratinocytes. *Curr Drug Saf*, 2012, **7**, 352-356.
9. Harr T, French LE.— Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Chem Immunol Allergy*, 2012, **97**, 149-166.
10. Cristallo AF, Schroeder J, Citterio A, et al.— A study of HLA class I and class II 4-digit allele level in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Int J Immunogenet*, 2011, **38**, 303-309.
11. Bharadwaj M, Illing P, Theodossis A, et al.— Drug hypersensitivity and human leukocyte antigens of the major histocompatibility complex. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, **52**, 401-431.
12. Niihara H, Kakamu T, Fujita Y, et al.— HLA-A31 strongly associates with carbamazepine-induced adverse drug reactions but not with carbamazepine-induced lymphocyte proliferation in a Japanese population. *J Dermatol*, 2012, **39**, 594-601.
13. Borroni RG.— Pharmacogenetic markers of severe cutaneous adverse drug reactions. *G Ital Dermatol Vener*, 2014, **149**, 219-226.
14. Chung W-H, Hung S-I.— Recent advances in the genetics and immunology of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrosis. *J Dermatol Sci*, 2012, **66**, 190-196.

15. Roychowdhury S, Vyas PM, Reilly TP, et al.— Characterization of the formation and localization of sulfamethoxazole and dapsone-associated drug-protein adducts in human epidermal keratinocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, **314**, 43-52.
16. Pichler WJ.— Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2002, **2**, 301-315.
17. Gerber BO, Pichler WJ.— Noncovalent interactions of drugs with immune receptors may mediate drug-induced hypersensitivity reactions. *AAAPS J*, 2006, **8**, 160-165.
18. Yang C-WO, Hung S-I, Juo C-G, et al.— HLA-B*1502-bound peptides: implications for the pathogenesis of carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, **120**, 870-877.
19. Chung W-H, Hung S-I, Chen Y-T.— Human leukocyte antigens and drug hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2007, **7**, 317-323.
20. Hung S-I, Chung W-H, Jee S-H, et al.— Genetic susceptibility to carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions. *Pharmacogenet Genomics*, 2006, **16**, 297-306.
21. Hung S-I, Chung W-H, Liou L-B, et al.— HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**, 4134-4139.
22. Ueta M, Sotozono C, Tokunaga K, et al.— Strong association between HLA-A*0206 and Stevens-Johnson syndrome in the Japanese. *Am J Ophthalmol*, 2007, **143**, 367-368.
23. Pirmohamed M, Arbuckle JB, Bowman CE, et al.— Investigation into the multidimensional genetic basis of drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Pharmacogenomics*, 2007, **8**, 1661-1691.
24. Lonjou C, Borot N, Sekula P, et al.— A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. *Pharmacogenet Genomics*, 2008, **18**, 99-107.
25. Hopley JF, Doane FW.— Development of a sensitive protein A-gold immunoelectron microscopy method for detecting viral antigens in fluid specimens. *J Virol Methods*, 1985, **12**, 135-147.
26. Hawkins HK, Rehm LS, Zhu JY.— Colloidal gold labeling of sections and cell surfaces. *Ultrastruct Pathol*, 1992, **16**, 61-70.
27. Alloisio N, Texier P, Denoroy L, et al.— The cisternae decorating the red blood cell membrane in congenital dyserythropoietic anemia (type II) originate from the endoplasmic reticulum. *Blood*, 1996, **87**, 4433-4439.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof. G.E. Piérard, Service de Dermatopathologie, CHU Site Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.
Email : gerald.pierard@ulg.ac.be