

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTE DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Intérêt d'un critère sérologique et histologique combiné dans le diagnostic
de glomérulonéphrite extra-membraneuse primitive**

Présentée et soutenue publiquement le 16/06/2020 à 18 heures
Au Pôle Recherche

par Camille ROGER

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Marc HAZZAN

Assesseurs :

Monsieur le Professeur François GLOWACKI

Madame le Docteur Viviane GNEMMI

Madame le Docteur Karine DAHAN

Directeur de thèse :

Madame le Docteur Claire CARTERY

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

ABREVIATIONS

GEM : Glomérulonéphrite Extra-Membraneuse

MBG : Membrane Basale Glomérulaire

IRA : Insuffisance Rénale Aigue

Ac : Anticorps

PLA2R : Récepteur de type M de la Phospholipase A2

MO : Microscopie Optique

IF : Immunofluorescence

IgG : Immunoglobulines G

MET : Microscopie Electronique

Ag : Antigène

C5b-9 : Complexe d'attaque membranaire

NEP : Endopeptidase Neutre

CTLD : Domaines Lectine de type C

FnII : Fibronectine de type II

CysR : Région Riche en Cystéine

THSD7A: Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A

NELL-1: Neural Epidermal Growth Factor-like 1 protein

LEAD : Lupus Erythémateux Aigu Disséminé

IFI : Immunofluorescence Indirecte

Table des matières

1	AVANT-PROPOS:	2
2	RESUME:	3
3	INTRODUCTION GENERALE:	5
3.1	EPIDEMIOLOGIE :	5
3.2	MANIFESTATIONS CLINIQUES :	5
3.3	DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE :	6
3.4	GEM PRIMITIVES ET ANTIGENES (AG) :	8
3.4.1	La néphrite de Heymann :	9
3.4.2	L'albumine bovine cationique et la théorie de l'Ag planté :	11
3.4.3	Endopeptidase Neutre (NEP) :	11
3.4.4	Le Récepteur de type M de la Phospholipase A2 (PLA2R) :	12
3.4.5	Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A (THSD7A), Exostosin 1-2, Neural Epidermal Growth Factor-like 1 protein (NELL-1):	14
3.5	LES GEM SECONDAIRES :	15
3.5.1	GEM associées aux cancers:	16
3.5.2	Lupus Erythémateux Aigu Disséminé (LEAD) :	17
3.5.3	Etiologies infectieuses :	17
3.5.4	Iatrogénie :	17
3.6	DISTINCTION GEM PRIMITIVE ET SECONDAIRE :	18
3.6.1	Ac anti-PLA2R :	18
3.6.2	PLA2R et biopsie rénale :	19
3.6.3	Sous-classes d'IgG, aspects en MO et IF :	20
3.7	OBJECTIFS DE L'ETUDE :	22
4	ARTICLE:	25
4.1	INTRODUCTION	25
4.2	MATERIAL AND METHODS.....	27
4.3	RESULTS	33
4.4	DISCUSSION.....	44
5	DISCUSSION GENERALE:	55
6	REFERENCES:	62

1 AVANT-PROPOS:

La glomérulonéphrite extra membraneuse (GEM) est une cause fréquente de syndrome néphrotique chez l'adulte. Bien que rare, cette pathologie auto-immune représente une des premières causes d'insuffisance rénale chronique terminale due à une glomérulonéphrite primitive. Le premier cas de GEM fut décrit en 1929 à partir de l'analyse anatomopathologique de rein d'un patient décédé ayant présenté un syndrome néphrotique et le terme GEM fut utilisé pour la première fois en 1946 par Bell (1). La GEM fut individualisée pour la première fois au niveau histologique en 1957 par l'anatomopathologiste David Jones (2), grâce à une coloration à base d'acide périodique et de méthénamine d'argent qui prendra secondairement son nom, permettant de mettre en évidence un épaissement de la membrane basale glomérulaire. La même année, Mellor et al. (3) mirent en évidence la présence d'immunoglobulines au niveau des dépôts sous épithéliaux grâce à la technique d'immunofluorescence décrite par Coons et Kaplan en 1950 (4).

Depuis les premiers modèles murins en 1959 (5), des progrès considérables ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes moléculaires et l'identification des antigènes à l'origine des GEM. Ces avancées avec notamment l'identification en 2009 par Beck et al. (6) du Récepteur de type M de la Phospholipase A2 comme antigène responsable de près de 70% des GEM primitives ont révolutionné la prise en charge diagnostic et le suivi thérapeutique de cette maladie.

2 RESUME:

Contexte : La glomérulonéphrite extra membraneuse (GEM) est une cause fréquente de syndrome néphrotique chez l'adulte. Son origine est primitive dans 80% des cas mais peut aussi être secondaire (cancers, lupus ou autres maladies immunologiques, infections, traitements). Pouvoir distinguer GEM primitive et secondaire est essentiel car les stratégies thérapeutiques sont différentes. Certains arguments histologiques tel que l'étude des sous-classes d'immunoglobulines (Ig) dominantes et la détection de PLA2R, permettent d'orienter le clinicien vers une origine primitive ou secondaire. L'objectif de notre étude était de tester l'efficacité d'un critère sérologique et histologique combiné dans le diagnostic de GEM primitive.

Méthodes : Etude multicentrique rétrospective ayant inclus 11 centres de néphrologie du Nord Pas-de-Calais. Tous les patients avec le diagnostic histologique de GEM entre 2010 et 2016 ont été inclus. Le diagnostic de GEM primitive était retenu après exclusion des étiologies secondaires (examen clinique, examens biologiques et radiologiques). Le critère sérologique et histologique combiné testé incluait trois items : (i) présence de l'antigène PLA2R au niveau de la biopsie rénale ou d'anticorps (Ac) anti- PLA2r sériques, (ii) dominance ou codominance de la sous-classe IgG4, (iii) absence d'hypercellularité endocapillaire. Nous avons calculé les indices informationnels de ce critère dans le diagnostic de GEM primitive.

Résultats : Les caractéristiques histologiques associés aux GEM primitives étaient la présence de PLA2R sur la biopsie ($p < 0.001$), la (co)dominance IgG4 ($p < 0.001$), alors que la présence d'hypercellularité endocapillaire ($p = 0.036$), de polifération extracapillaire ($p = 0.003$) et mésangiale ($p = 0.048$) et la (co)dominance IgG1 et IgG2 ($p < 0.001$ et $p = 0.007$) étaient associées aux GEM secondaires. La sensibilité et la spécificité du critère combiné

étaient de : 0.57 [IC 95% : 0.48-0.66] et 0.95 [0.88-1.00] contre 0.81 [0.74-0.88] et 0.85 [0.75-0.95] pour le statut PLA2R (biopsie ou Ac sériques).

Conclusion : Nos résultats montrent une spécificité et valeur prédictive positive importantes du critère combiné testé, diminuant le risque de faux positifs par rapport au statut PLA2R seul. Il pourrait être utilisé afin d'exclure les GEM secondaires, permettant l'affranchissement d'examens secondaires coûteux, chronophages et angoissants pour le patient.

3 INTRODUCTION GENERALE:

3.1 Epidémiologie :

La glomérulonéphrite extra-membraneuse (GEM) est une pathologie rénale dont le diagnostic repose sur l'analyse anatomopathologique. Le nom GEM fait référence aux caractéristiques histologiques de cette pathologie avec la présence de dépôts immuns sur le versant externe de la membrane basale glomérulaire (MBG) aboutissant à un épaissement de cette dernière.

La GEM est responsable de près de 20 à 30% (7–9) des causes de syndrome néphrotique, et serait la deuxième cause de syndrome néphrotique après la néphropathie diabétique chez l'adulte caucasien. L'incidence annuelle de la GEM serait de 1.7 cas sur 100 000 personnes année avec 10 000 patients incidents par an en Europe dont 1300 cas par an en France (9,10). La GEM touche plus souvent les hommes (sexe ratio de 2 pour 1) avec un pic d'incidence entre 30 et 50 ans (11). Le taux de récurrence de la GEM sur greffon avoisinerait les 40% (12).

3.2 Manifestations cliniques :

La protéinurie et les œdèmes sont les principales manifestations clinico-biologiques de la GEM. La protéinurie peut varier quantitativement et être inférieure à 3g/jour (13) ou atteindre plus de 20g/jour. 70 à 80% des patients présentent un syndrome néphrotique au diagnostic (11).

Près de 50% des patients présentent une hématurie et 70% des patients ont une pression artérielle normale et un DFG non altéré au diagnostic (14).

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est plus rare (10% des cas) et est en général liée à l'hypovolémie relative secondaire au syndrome néphrotique et à l'hypoalbuminémie majeure et/ou aux diurétiques prescrits afin de réduire les œdèmes.

En cas d'hypo albuminémie profonde, une thrombose bilatérale des veines rénales peut également survenir et être responsable d'IRA. La présence d'une IRA peut aussi traduire la présence d'une glomérulonéphrite extra capillaire associée (15).

Les œdèmes sont classiquement d'apparition plus lente que dans d'autres pathologies glomérulaires (hyalinose segmentaire et focale et lésions glomérulaires minimales) car les lésions histologiques sont créées par l'accumulation progressive et insidieuse des dépôts au niveau de la MBG. Les patients sont ainsi souvent protéinuriques depuis plusieurs semaines voire mois avant que le diagnostic ne soit posé.

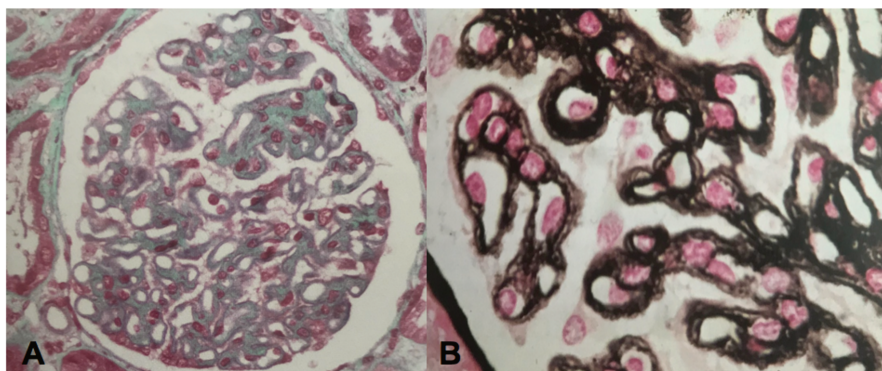
L'évolution naturelle est marquée par la rémission complète à 5 ans chez 5 à 30% des patients, la rémission partielle (diminution de 50% de la protéinurie et protéinurie < 3.5 g/jour) à 5 ans chez 25 à 40% des patients, ou l'apparition d'une insuffisance rénale chronique chez 35% des patients à 10 ans (16–18).

Les facteurs de risque clinico-biologiques associés à l'apparition d'une insuffisance rénale terminale sont : l'âge supérieur à 60 ans au diagnostic, le sexe masculin, une protéinurie > 3.5g/jour (particulièrement lorsqu'elle dépasse 8 à 10g/jour), la présence d'une insuffisance rénale aiguë (16,19) et un taux d'anticorps (Ac) anti Récepteur de type M la Phospholipase A2 (PLA2R) élevé au diagnostic (20).

3.3 Diagnostic anatomopathologique :

Le diagnostic de GEM est un diagnostic histologique qui retrouve en microscopie optique (MO) un épaissement de la MBG lié à la présence de dépôts immuns sous épithéliaux (21) (Figure 1A). L'atteinte est en générale diffuse et touche toutes les anses capillaires de manière identique. Les dépôts s'accumulent progressivement au cours du temps et sont secondairement entourés par des expansions de MBG, aboutissant à la formation caractéristique de spicules ou « spikes » particulièrement visibles en coloration argentique de Jones (Figure 1B et 2A).

Figure 1 : Aspects anatomopathologiques de la GEM en MO (21). A : Coloration au Trichrome de Masson (épaississement de la MBG). B : Coloration argentique de Jones (remaniements de la MBG en rails et chaînettes)



L'aspect en Immunofluorescence (IF) retrouve une fixation d'immunoglobulines G (IgG) granuleuse au niveau des capillaires glomérulaires, ainsi qu'une fixation de C3 dans les cas de GEM primitive (Figure 2B).

En Microscopie Electronique (MET), les dépôts sous épithéliaux apparaissent électroniquement denses sur la face externe de la MBG (Figure 2 C et D). La MET permet aussi de voir un effacement des pieds des podocytes aux stades précoces et les spicules de la MBG.

Il existe une classification anatomopathologique de la GEM permettant de décrire l'évolution naturelle de la GEM en dehors de tout traitement. Cette classification comporte 4 stades (22,23).

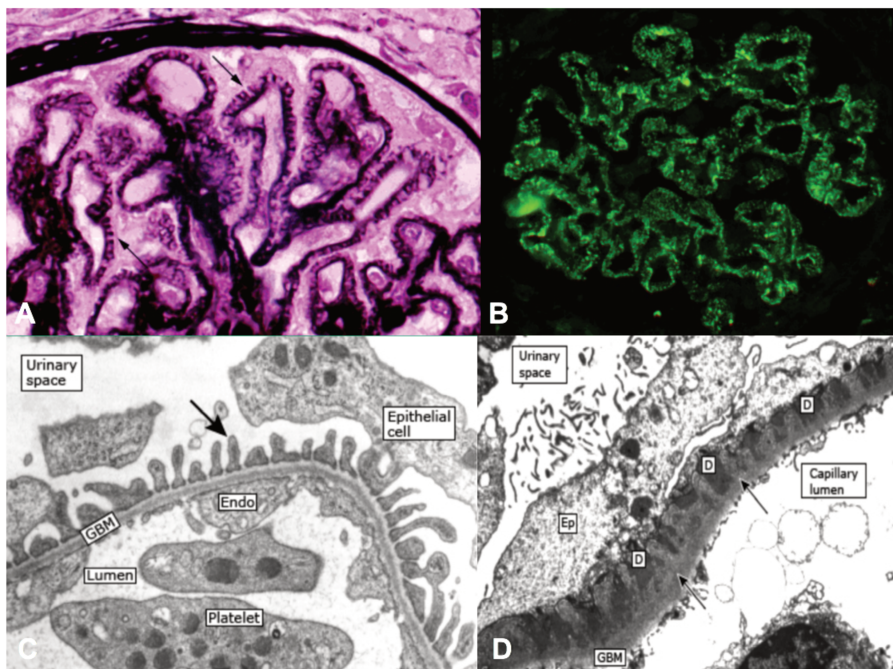
Le stade 1 de la GEM retrouve des glomérules très proches de la normale en MO. Un aspect plus dilaté des lumières capillaires est possible. L'IF permet de poser le diagnostic en retrouvant un aspect de fins dépôts d'IgG le long des capillaires glomérulaires.

Le stade 2 retrouve un épaississement diffus de la MBG visible sur tous les glomérules en colorations standards. Les spicules sont bien visibles à ce stade.

Le stade 3 est le résultat des remaniements de la MBG avec apparition de matériel membranaire et fusion des spicules. La MBG revêt un aspect en chaînette, en rail, ou en double contours aux colorations standards (Figure 1B).

Au stade 4, la MBG est très épaisse et les dépôts ne sont plus discernables. Les dépôts sont entièrement incorporés dans la nouvelle MBG. Ils peuvent parfois être négatifs à l'IF rendant le diagnostic difficile. La MET permet en général de rétablir le diagnostic.

Figure 2 : Aspects anatomopathologiques de la GEM en MO, IF, MET (24). A : Coloration argentique de Jones avec visualisation des spicules B. IF : Dépôts granuleux d'IgG. C. MET : aspect normal d'une anse capillaire avec endothélium fenestré. D : MET : (D : Dépôts denses, Ep : cellule épithéliale)

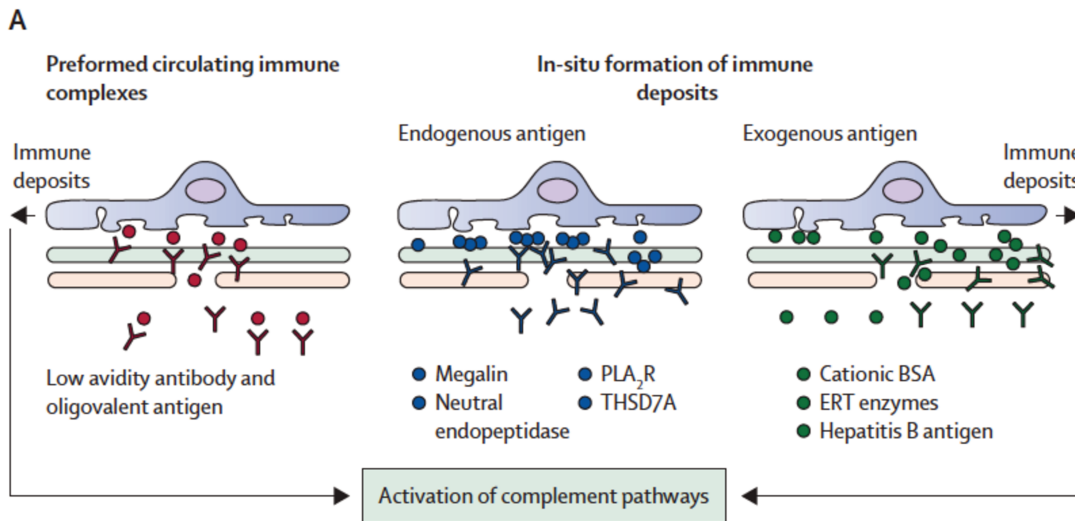


3.4 GEM primitives et antigènes (Ag) :

Près de 80% des GEM seraient d'origine primitive et 20% d'origine secondaire (11).

Le mécanisme à l'origine de la création des dépôts sous épithéliaux a fait l'objet de nombreuses découvertes et publications ces 60 dernières années. De manière schématique, les dépôts sous épithéliaux peuvent provenir (Figure 3 de gauche à droite) : (i) de dépôts de complexes immuns circulants préformés ; (ii) de la formation in situ d'un complexe Ac-Ag à partir d'un Ag podocytaire endogène ou (iii) de la formation d'un complexe Ac-Ag à partir d'un Ag exogène « planté » dans la MBG (25).

Figure 3 : Schématisation des théories antigéniques à l'origine des GEM primitives (5)



Les dépôts immuns activent ensuite le complément avec la création du complexe d'attaque membranaire (C5b-9) qui s'insère sur la membrane podocytaire (26,27). La protéinurie résulte secondairement de l'activation de différentes voies de signalisation podocytaires par le C5b9 aboutissant à une réorganisation du cytosquelette podocytaire et des molécules d'actine (28) avec lésions du diaphragme de fente (26,29,30). En réponse aux lésions podocytaires, la MBG synthétise de manière anormale des molécules de matrice extracellulaire (collagène de type 4 et molécules de laminines (31–33)) aboutissant à la création d'expansions de la MBG autour et entre les dépôts formant les « spicules » caractéristiques de la GEM.

3.4.1 La néphrite de Heymann :

Heymann publiait en 1959 la première étude montrant le rôle potentiel d'Ag rénaux dans la pathogénicité de la GEM. L'immunisation de rats Lewis contre la bordure en brosse du tubule proximal induisait une protéinurie d'ordre néphrotique et une glomérulonéphrite à dépôts comparables à la GEM (modèle actif de la néphrite de Heymann) (5). Il était initialement supposé que les dépôts provenaient du piégeage de complexes immuns

préformés à partir d'Ag issus des protéines de la bordure en bosse (34) car l'immunisation de rats à partir d'extraits glomérulaires n'induisait pas de protéinurie (35). Cette hypothèse fut secondairement infirmée avec le modèle passif de la néphrite de Heymann : l'injection à des rats d'Ac issus de lapins immunisés contre la bordure en brosse de rats reproduisait les lésions glomérulaires dans les minutes suivant l'injection (36,37). Van. Damme et al. et Couser et al. (36,37) mirent secondairement en évidence grâce à un modèle ex-vivo de rein perfusé, que les Ac anti bordure en brosse se liaient aux glomérules, amenant ainsi la preuve de la formation *in situ* du complexe Ag-Ac. Cette formation Ag-Ac induisait secondairement une protéinurie glomérulaire via l'activation du complément (26,27). Les rats déficitaires en la fraction C3 du complément ne développaient pas de protéinurie (27) et la déplétion en fraction C6 et C8 du complément empêchaient la protéinurie malgré la présence de dépôts sous épithéliaux (38). L'activation du complexe d'attaque membranaire C5b9 jouait donc un rôle central à l'origine de lésions du diaphragme de fente (26,27), d'une réorganisation du cytosquelette et des molécules d'actine (26,29,30). Puis en 1980 (39), il a été montré que le principal Ag contre lequel étaient immunisés les rats dans le modèle de la néphrite de Heymann était la Mégaline (récepteur transmembranaire de la famille des LDL récepteurs) présente au niveau des cellules tubulaires mais également au niveau des cellules podocytaires chez le rat. Ces travaux furent les premiers à suggérer une auto-immunité dans le mécanisme physiopathologique de la GEM et à mettre en exergue le rôle joué par le complément. Cependant la Mégaline n'a jamais été mise en évidence dans les dépôts sous épithéliaux de patients présentant une GEM et est absente des podocytes humains.

3.4.2 L'albumine bovine cationique et la théorie de l'Ag planté :

Border et al.(40) rapportèrent un modèle de GEM chez des lapins immunisés contre l'albumine bovine cationique. L'hypothèse soulevée était que seuls les Ag chargés positivement pouvaient créer des dépôts sous épithéliaux en traversant la barrière capillaire qui elle est chargée négativement. Ainsi ils montrèrent que les modèles de lapins immunisés contre l'albumine bovine chargée positivement présentaient plus de dépôts sous épithéliaux et une protéinurie plus importante que les lapins immunisés contre l'albumine bovine neutre ou chargée négativement. Il a secondairement été montré que la cationisation chimique de l'albumine bovine diminuait son immuno-pathogénicité et aboutissait à la création de complexes immuns circulants de faible avidité, facilitant ainsi la dissociation du complexe immun (41,42) et « le dépôt » au niveau de la MBG de la molécule antigénique d'albumine. Ce dépôt d'Ag exogène était favorisé par l'attachement aux protéoglycanes chargés négativement de la MBG (43). Il se créait secondairement un complexe immun par la formation Ac-Ag à partir « de l'Ag planté ».

Des cas de GEM secondaires liées à l'albumine bovine cationique ont été décrits chez l'enfant (44). Le mécanisme de cationisation de l'albumine dans ces cas n'est pas élucidé à ce jour. L'albumine bovine provient principalement du lait de vache dans l'alimentation occidentale. Ce mécanisme doit être évoqué lors de la découverte d'une GEM chez l'enfant. Le retrait de l'alimentation de l'albumine bovine pourrait alors avoir un impact favorable sur l'évolution de la GEM.

3.4.3 Endopeptidase Neutre (NEP) :

La mise en évidence de phénomènes d'allo-immunisation materno-fœtale renforça l'idée d'une auto-immunité impliquée dans la physiopathologie de la GEM primitive. Debiec et al. (18) décrivent en 2002, des cas d'allo immunisation materno-fœtale contre NEP

responsable de GEM chez le fœtus. Les mères étaient déficientes pour la protéine podocytaire NEP car porteuses de mutations tronquantes au niveau du gène. Les mères s'allo-immunisaient durant leur grossesse (présence de NEP au niveau fœtal issu du patrimoine génétique du père). Le passage transplacentaire des Ac maternels lors du 3^e trimestre aboutissait à un tableau de syndrome néphrotique chez le fœtus. Après l'accouchement, avec la disparition des Ac maternels dans le sérum de l'enfant, il était noté une régression totale du syndrome néphrotique. Cinq familles porteuses de ces mutations ont pu ainsi être identifiées à ce jour.

3.4.4 Le Récepteur de type M de la Phospholipase A2 (PLA2R) :

L'analyse protéomique, la spectrométrie de masse et la micro-dissection de glomérules humains ont rendu possible l'identification des Ag podocytaires responsables de GEM primitive.

En 2009 Beck et al. (6) mettent en évidence PLA2R comme cible podocytaire principale de la GEM, avec la mise en évidence d'Ac anti-PLA2R chez 70% des patients ayant une GEM primitive.

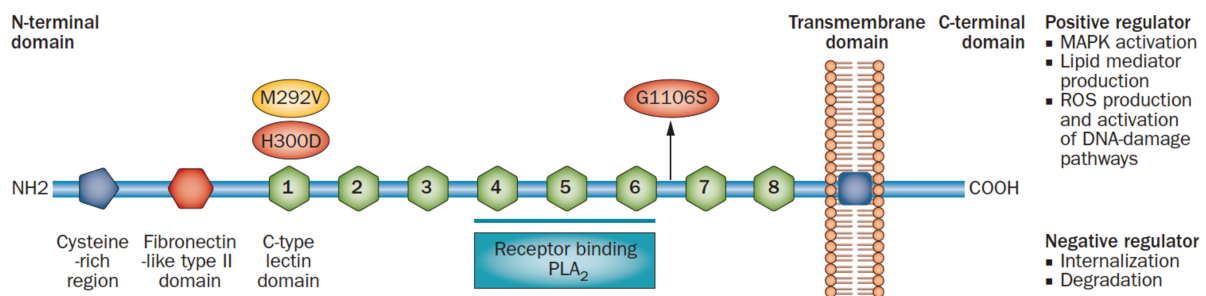
Le récepteur PLA2R est un récepteur transmembranaire de la famille des mannoses. Il présente de 10 domaines extracellulaires, un segment transmembranaire et une portion intra-cytoplasmique avec motif d'endocytose (Figure 4). Depuis son extrémité N-terminale il se compose d'une région riche en cystéine (CysR), un domaine fibronectine de type II (FnII) et huit domaines lectine de type C (CTLD). Il lie PLA2s une enzyme pro-inflammatoire. La liaison PLA2s à son récepteur peut induire une réaction anti-inflammatoire avec l'internalisation du ligand et du récepteur par endocytose. La liaison de PLA2s avec PLA2R jouerait un rôle dans la régulation de la senescence podocytaire et pourrait induire une apoptose podocytaire via la production de radicaux libres ROS

(25,25). PLA2R pourrait aussi jouer un rôle dans l'homéostasie de la MBG et dans l'attachement des pieds des podocytes à la MBG via le collagène IV (46).

Les Ac anti-PLA2R sont principalement constitués d'IgG4 et il existe une colocalisation de PLA2R et IgG4 sur les biopsies rénales de GEM primitive (6,47,48).

La majorité des Ac anti PLA2R ciblent un épitope conformationnel particulier situé dans le domaine N-terminal et plus particulièrement dans la région CysR-FnII-CTLD1 de l'Ag PLA2R en condition réduite (présence d'au moins un pont disulfure) (49,50).

Figure 4 : Récepteur PLA2R. Epitepe immuno-dominant situé dans la partie N terminale : CysR-FnII-CTLD1 (35)



Le phénomène « d'Epitope spreading », terme usuel pour l'étalement intra moléculaire des épitopes, consiste en la reconnaissance par les Ac anti PLA2R de nouveaux épitopes, adjacents à l'épitope princeps (au-delà du domaine CysR). Il serait associé à un moins bon pronostic rénal, une moins bonne réponse au traitement, et pourrait expliquer l'évolution par « poussée » de la maladie (51)(52).

Les Ac anti PLA2R activent le complexe d'attaque membranaire probablement via la voie des lectines, aboutissant à des lésions podocytaires irréversibles (30). La voie alterne du complément pourrait elle aussi être activée (53). Certains polymorphismes des gènes PLA2R1 et HLA-DQA1 augmentent le risque de survenue d'une GEM idiopathique (54).

La pathogénicité des Ac anti PLA2R n'a pas pu être démontrée chez les modèles animaux car PLA2R n'est pas exprimé au niveau podocytaire chez les rongeurs ou les autres animaux de laboratoire. Cependant plusieurs arguments sont en faveur de sa pathogénicité : (i) le taux d'Ac est un reflet de l'activité de la maladie (55,56), (ii) le titre d'Ac semble prédire le risque de récurrence sur greffon (57), (iii) certains variants génétiques de PLA2R1 sont associés à un sur-risque de GEM primitive (54).

3.4.5 Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A (THSD7A), Exostosin 1-2, Neural Epidermal Growth Factor-like 1 protein (NELL-1):

En 2010, Bell et al. mirent en évidence la présence d'un nouvel Ac dirigé contre une protéine d'environ 250k Da contenue dans un extrait glomérulaire chez un patient atteint de cancer de la prostate (58). Secondairement, Tomas et al. identifièrent ce nouvel Ag : THSD7A (59). THSD7A serait responsable de 2.5 à 5% des GEM primitives soit 8 à 14% des GEM primitives PLA2R négatives (20,59,60). Cette prévalence semble être plus importante chez les patients Japonais (autour de 9%) (61). THSD7A est une protéine transmembranaire podocytaire et les Ac anti THSD7A sont essentiellement constitués d'IgG4 à l'instar de PLA2R (59). Les Ac anti-THSD7A seraient majoritairement polyréactifs avec plus de 3 épitopes ciblés, principalement situés dans la région N-terminale de THSD7A (62)

THSD7A jouerait un rôle précoce dans la migration ces cellules endothéliales lors de l'embryogenèse (63), dans la maturation et l'adhésion podocytaire via la collagène de type IV ainsi que dans la stabilisation du diaphragme de fente des podocytes matures (64).

Les Ac anti-THSD7 A ont été associés à certains cas de GEM secondaires paranéoplasiques avec une prévalence variant de 6 à 20% selon les études (20,65). Dans un cas rapporté de cancer neuroendocrine de la vésicule biliaire associé à une GEM avec

Ac anti-THSD7A , il était retrouvé une expression anormale de THSD7A au niveau des cellules tumorales et le traitement par chimiothérapie aboutissait à une diminution du taux d'Ac anti-THSD7A et de la protéinurie (20).

L'association d'Ac anti-THSD7 et anti-PLA2R a déjà été décrite mais reste très rare et la présence d'un Ac exclut en général le second (60) traduisant probablement un mécanisme auto-immun indépendant .

En 2019, Sethi et al. ont mis en évidence l'accumulation d'Ac dirigés contre l'Exostosine 1 et 2 dans 21 cas de GEM PLA2R négative. L'Exostosine est une enzyme responsable de la synthèse des protéoglycanes de la MBG. Ces Ag joueraient un rôle prépondérant dans les GEM secondaires auto-immunes (66) : 85% des biopsies présentaient des caractéristiques associées habituellement aux GEM secondaires à une pathologie auto-immune, et l'Ag Exostosine 1/2 était détecté chez 8/18 cas de GEM lupiques.

Plus récemment, la découverte de l'Ag NELL-1 dans 5 à 23% des GEM primitives PLA2R et THSD7A négative (67) révélait probablement le second Ag le plus fréquent dans la GEM primitive, après PLA2R.

3.5 Les GEM secondaires :

Environ 15 à 20% des GEM sont liées à une étiologie secondaire d'origine infectieuse, néoplasique, auto-immune ou médicamenteuse. Le tableau 1 détaille les différentes étiologies de GEM secondaire rapportées dans la littérature.

Tableau 1 : Liste des étiologies secondaires de GEM rapportées dans la littérature (68)

Autoimmune	Infections
Autoimmune diseases	Hepatitis B
Systemic lupus erythematosus	Hepatitis C
Rheumatoid arthritis	Human immunodeficiency virus
Mixed connective tissue disease	Malaria
Dermatomyositis	Schistosomiasis
Ankylosing spondylitis	Filariasis
Systemic sclerosis	Syphilis
Myasthenia gravis	Enterococcal endocarditis
Bullous pemphigoid	Hydatid disease
Autoimmune thyroid disease	Leprosy
Sjögren's syndrome	
Temporal arteritis	
Crohn's disease	
Graft-versus-host disease	
Malignancies	
<i>Carcinomas</i>	<i>Noncarcinomas</i>
Lung	Hodgkin's lymphoma
Esophageal	Non-Hodgkin's lymphoma
Colon	Leukemia (chronic lymphocytic leukemia)
Breast	Mesothelioma
Stomach	Melanoma
Renal	Wilm's tumor
Ovary	Hepatic adenoma
Prostate	Angiolymphatic hyperplasia
Oropharynx	Schwannoma
	Neuroblastoma
	Adrenal ganglioneuroma
Drugs/Toxins	Miscellaneous
Gold	Diabetes mellitus (association or cause?)
Penicillamine	Sarcoidosis
Bucillamine	Sickle cell disease
Mercury compounds	Polycystic kidney disease
Captopril	α 1-antitrypsin deficiency
Probenicid	Weber-Christian disease
Trimethadione	Primary biliary cirrhosis
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs	Systemic mastocytosis
Cyclooxygenase-2 inhibitors	Guillain-Barre syndrome
Clopidogrel	Urticarial vasculitis
Lithium	Hemolytic-uremic syndrome
Formaldehyde	Dermatitis herpetiformis
Hydrocarbons	Myelodysplasia

3.5.1 GEM associées aux cancers:

La prévalence des GEM secondaires aux cancers varierait entre 5 et 22% selon les études. Une méta-analyse réalisée en 2014 retrouvait comme néoplasies les plus fréquentes : le cancer pulmonaire (tous types confondus) (26%), le cancer de prostate (15%), les hémopathies (14%), et le cancer colorectal (11%) (69).

Dans 80% des cas, les cancers sont diagnostiqués avant ou à l'occasion de la découverte de GEM (70,71). Le cancer peut aussi être diagnostiqué dans les mois suivant le diagnostic de GEM (72), avec un délai moyen de un an (73). Le lien de causalité entre GEM et cancer est souvent difficile à établir. Le diagnostic repose sur la présence d'une rémission partielle ou totale de la protéinurie après le traitement du cancer (chirurgie,

chimiothérapie ou radiothérapie), la rechute clinique avec réapparition/majoration de la protéinurie après rechute du cancer (58,74). La détection d'Ac anti-tumoraux au niveau des dépôts sous épithéliaux est un argument en plus en faveur du lien de causalité (75,76). Ces critères sont en général difficiles à mettre en évidence dans les différentes études.

3.5.2 Lupus Erythémateux Aigu Disséminé (LEAD) :

Près de 15% des GEM seraient secondaires à un LEAD. Cette étiologie doit être évoquée chez les femmes jeunes. La GEM peut être le signe d'entrée dans la maladie et la positivité des Ac anti-nucléaires ainsi que la présence de signes extra rénaux peuvent survenir plusieurs mois après le diagnostic de GEM. De nombreux arguments histologiques permettent aussi d'évoquer ce diagnostic (Tableau 2). Récemment, les Ac anti-Exostosine ont été rapportés dans cette entité.

3.5.3 Etiologies infectieuses :

Plusieurs étiologies infectieuses sont décrites comme responsables de GEM et sont classiquement recherchées lors de la découverte de GEM : VHB, VHC, Syphilis. Leur prévalence est plus importante dans les pays émergents.

3.5.4 Iatrogénie :

La GEM a été associée à la prise d'un certain nombre de médicaments dont les AINS, le Captopril, les sels d'ors, et la penicillamine. Leur prévalence reste faible de nos jours.

3.6 Distinction GEM primitive et secondaire :

3.6.1 Ac anti-PLA2R :

Depuis 2011, la recherche d'Ac anti PLA2R sérique est disponible en routine. Il existe trois méthodes diagnostiques pour la détection d'Ac anti PLA2R : le Western Blot, l'Immunofluorescence indirecte (IFI) et la méthode immuno-enzymatique (ELISA), mais seules les deux dernières techniques sont utilisées en pratique courante. La technique ELISA est quantitative et objective (77) alors que la méthode par IFI est semi-quantitative et observateur dépendante, ce qui peut aboutir à des résultats équivoques. La technique par IFI peut apparaître plus sensible selon le seuil de positivité utilisé en ELISA mais toutes deux sont très spécifiques (78,79). Ainsi une première recherche en IFI est souvent réalisée en dépistage, puis un dosage du titre d'Ac est secondairement réalisé par ELISA. Le titre d'Ac anti-PLA2R évolue en parallèle de l'activité de la maladie. La sensibilité et spécificité des Ac varient donc en fonction de l'activité de la pathologie (phase initiale, rémission, guérison...).

Il n'a pas été décrit à ce jour d'autres glomérulonéphrites avec Ac anti-PLA2R circulants (78)(25), rendant cet Ac très spécifique du diagnostic GEM.

La sensibilité des Ac anti-PLA2R dans le diagnostic de GEM primitive semble être proche de 80% avec des variations entre 57 et 96% (6,80–83,83–85) et la spécificité est habituellement proche de 90% avec des variations entre 70 et 99% selon les études (6,80–83,83–86). La sensibilité des Ac anti-PLA2R semble être plus faible chez les patients Japonais (autour de 50%).

Le monitoring des taux d'Ac anti-PLA2R peut être utilisé afin d'évaluer l'activité de la maladie. La diminution ou disparition des Ac anti-PLA2R précède de plusieurs mois la rémission clinique (47,87), et la rechute clinique est en général associée avec la réapparition des Ac anti-PLA2R (55). Le taux d'Ac au diagnostic semble être corrélé au

pronostic rénal, avec une rémission plus fréquente et plus précoce chez les patients avec un taux d'Ac plus bas au diagnostic (47,56). La persistance des Ac anti-PLA2R à la fin du traitement serait associée à un sur-risque de rechute à long terme (88). Le suivi du taux d'Ac pourrait donc aider les cliniciens à décider quand diminuer ou intensifier le traitement, comme proposé par De Vriese et al. (89).

3.6.2 PLA2R et biopsie rénale :

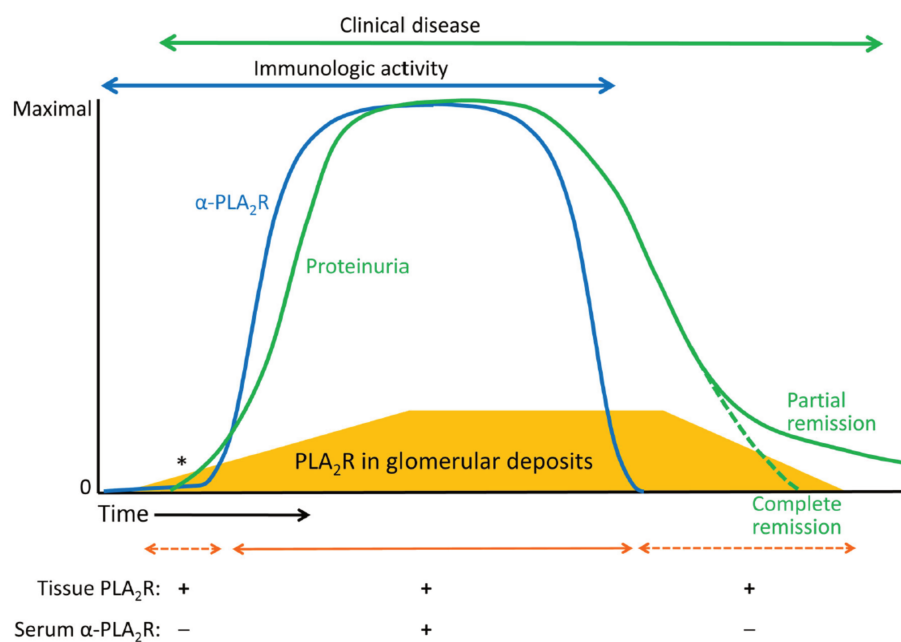
La détection de PLA2R peut être réalisée sur des fragments de tissu rénal inclus en paraffine, par technique d'immunohistochimie ou IFI, ou sur du tissu congelé par technique d'IFI. La détection de PLA2R à faible intensité est physiologique au niveau de la membrane et du cytoplasme des podocytes (85,90). La liaison des Ac anti-PLA2R à leur récepteur forme des complexes immuns qui s'agrègent entre eux et sont transportés au niveau de l'espace sous épithélial entre la MBG et le podocyte.

La détection de PLA2R au niveau des dépôts sous épithéliaux est très corrélée à la détection d'Ac anti-PLA2R dans le sang et est globalement plus sensible que la sérologie (48). L'absence d'Ac anti-PLA2R circulants n'exclue pas le diagnostic de GEM primitive liée à PLA2R (48,85) et la sérologie doit être répétée plusieurs fois dans le temps. La détection de PLA2R au niveau des biopsies rénales peut précéder la détection d'Ac anti-PLA2R (91) et/ou persister après la négativation des Ac.

Lors de la phase initiale de la pathologie, les Ac sont rapidement absorbés au niveau glomérulaire et ne sont pas encore détectés dans le sérum, le rein jouant alors un rôle « d'évier » débarrassant le sang des Ac. Puis les glomérules deviennent « saturés » et le taux d'Ac anti-PLA2R augmente devenant alors détectable (78). Lors d'une rémission immunologique, le taux d'Ac devient indétectable alors que PLA2R peut rester positif au niveau de la biopsie rénale et la protéinurie être toujours présente. La rémission de la

protéinurie et la négativation de PLA2R au niveau de la biopsie se fera alors secondairement. Certains patients semblent avoir des Ac anti-PLA2R sans PLA2R détectés au niveau des dépôts sous membraneux (48,78); une explication pourrait être l'absence de pathogénicité de ces Ac anti-PLA2R circulants ou l'absence d'accès aux épitopes PLA2R classiquement reconnus par les Ac commerciaux utilisés en IFI. La Figure 5 représente schématiquement l'association temporelle entre la positivité des Ac anti-PLA2R sériques, la détection de PLA2R au niveau de la biopsie et les manifestations cliniques (78).

Figure 5 : Association temporelle entre Ac anti-PLA2R, dépôts sous épithéliaux et manifestations cliniques (protéinurie)



3.6.3 Sous-classes d'IgG, aspects en MO et IF :

L'étude des sous-classes d'IgG permet d'orienter le diagnostic vers une GEM primitive ou secondaire. La sous-classe IgG4 est prédominante dans les GEM primitives (6,83) traduisant la forte prévalence de GEM primitives PLA2R positives. Huang et al. ont montré que la distribution des sous-classes d'IgG différait en fonction du stade de la GEM (92)

avec la prédominance de la sous-classe IgG1 dans les stades précoces et IgG4 au stade tardif.

Les sous-classes IgG1/IgG2 prédominent dans les GEM secondaires associées aux cancers (7,93,93–97). Lefaucheur et al. ont montré que la présence de 8 leucocytes ou plus infiltrant le glomérule était fortement associée aux GEM secondaires aux cancers (72). La présence de croissants semble rare avec une prévalence autour de 0.3% et plus fréquente dans les cas de GEM secondaires associées aux vascularites à ANCA (98).

De nombreux arguments histologiques doivent faire évoquer une GEM lupique : (i) la présence de signes de glomérulonéphrite proliférative avec prolifération endocapillaire et/ou extracapillaire (99), (ii) la prédominance des sous-classes IgG1/IgG2/IgG3 (iii) la présence d'inclusions tubulo-réticulaires au sein des cellules endothéliales visibles au MET, (iv) la présence de dépôts immuns sous-endothéliaux et mésangiaux, (v) la présence d'une IF positive à C1q, IgG1/2/3, IgA et IgM formant le traditionnel « full house », (vi) la présence d'IgG le long des tubules liée à la présence d'Ac anti-membrane basale tubulaire avec néphrite tubulo-interstitielle associée (93,94,97,100,101).

A contrario, les GEM primitives, présenteront une positivité PLA2R dans près de 70% des cas avec colocalisation IgG4 (48), des dépôts typiquement sous épithéliaux avec positivité d'IgG et C3 uniquement en IF (C1q, IgM, IgA négatifs), peu ou pas de dépôts mésangiaux (102) et pas/peu d'hypercellularité endocapillaire (72) ou de prolifération extra-capillaire (98,103).

L'ensemble des différences histologiques rapportées dans la littérature permettant d'orienter le diagnostic vers une étiologie primitive ou secondaire sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Arguments histologiques orientant vers une GEM primitive ou secondaire

GEM primitive	GEM secondaire
<p>Détection de PLA2R en fin dépôts granuleux niveau des dépôts sous épithéliaux (6)</p> <p>Prédominance de la sous-classe IgG4 ou codominance IgG4 (20,44–46)</p> <p>Prédominance de la sous-classe IgG1 aux stades précoces (92)</p> <p>Dépôts sous épithéliaux d'IgG et de C3 uniquement (21)</p> <p>Dépôts typiquement sous épithéliaux et intra membraneux (21)</p> <p>Peu de dépôts mésangiaux (51)</p> <p>Possibilité de détection de THSD7A (59), NELL1 (67)</p>	<p>Associée aux cancers :</p> <p>Prédominances de la sous-classe IgG1(45) ou IgG1/IgG2 (53)</p> <p>Absence de détection de la sous-classe IgG4 (45,46)</p> <p>Hypercellularité endocapillaire (72)</p> <p>Possibilité de détection de THSD7A (104)</p>
	<p>LEAD/pathologies auto-immunes :</p> <p>Prédominance IgG1/2/3 (93,94,97)</p> <p>Dépôts d'IgG1/2/3, IgA, IgM et de C1q (« full house ») (100)</p> <p>Dépôts d'IgG au niveau des membranes tubulaires (53)</p> <p>Inclusions tubulo-réticulaires (100,105)</p> <p>Dépôts sous endothéliaux et mésangiaux (53,54)</p> <p>Hypercellularité endocapillaire (99)</p> <p>Prolifération extracapillaire (21)</p> <p>Détection d'Exostosine 1-2 (66)</p>

3.7 Objectifs de l'étude :

En l'absence de rémission spontanée, les traitements envisagés dans la GEM primitive sont des agents alkylants ou l'immunothérapie (68,106) tandis que ceux de la GEM secondaire reposent principalement sur la prise en charge de la pathologie sous-jacente

(cancer, infections, LEAD...). Il apparaît alors crucial de pouvoir différencier GEM primitive et secondaire afin de ne pas imposer un traitement aux effets secondaires lourds, qui pourraient aggraver le pronostic de la maladie, et mettre en jeu le pronostic vital du patient (notamment en cas de GEM associée au cancer).

Ainsi, lors du diagnostic de GEM, la pratique clinique actuelle repose sur la réalisation nombreux examens complémentaires afin d'exclure une cause secondaire, et particulièrement un cancer : scanner thoraco-abdominopelvien, PET-scanner, endoscopies digestives, mammographie... Il n'existe pas à ce jour de recommandations claires sur l'exhaustivité des investigations à réaliser afin d'éliminer une étiologie secondaire et les examens réalisés sont souvent centre et examinateur dépendants. Ces différents examens sont l'origine d'un coût financier important, peuvent être particulièrement chronophages, et sont sources d'inquiétude pour les patients. De plus, ils peuvent être à l'origine de certaines complications (liées à l'injection d'iode, à la pratique d'une fibroscopie...).

Il paraît donc intéressant de disposer de marqueurs fiables et spécifiques afin de prédire avec certitude le caractère primitif de la GEM et de s'affranchir de nombreux examens complémentaires. La détection d'Ac anti-PLA2R ainsi que l'analyse de la biopsie rénale permettent d'orienter le clinicien : expression renforcée de PLA2R, IgG dominante, présence d'hypercellularité endocapillaire, de prolifération extracapillaire (Tableau 2). Cependant la sensibilité et la spécificité de chaque paramètre pris séparément restent imparfaites et ne permettent pas de conclure de manière certaine à une GEM primitive (86,107). Plusieurs cas d'Ac anti-PLA2R ou de détection de PLA2R au niveau des biopsies rénales en cas de GEM secondaires ont été décrits ; notamment en cas de cancer (108), de LEAD (83), de VHB (109), de VHC (60), de sarcoïdose (110,111) ou

d'autres pathologie auto-immune (112). De plus il existe des cas décrits d'Ac anti PLA2R chez des individus sains (113).

Certains auteurs ont proposé un algorithme permettant de retenir le diagnostic de GEM primitive (114) : (i) détection d'Ac anti PLA2R, (ii) dominance de la sous-classe IgG4 et (iii) moins de 8 cellules inflammatoires par glomérule (72). Cet algorithme n'a à ce jour jamais été testé.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les performances diagnostiques d'un critère combiné sérologique et histologique modifié, basé sur l'algorithme proposé par Ronco et Cambier afin de retenir le diagnostic de GEM primitive. Le critère combiné testé comprend 3 items : (i) détection de PLA2R au niveau de la biopsie ou d'Ac anti- PLA2R sérique, (ii) dominance ou codominance de la sous-classe IgG4, (iii) absence d'hypercellularité endocapillaire définie par l'occlusion partielle ou totale d'au moins une anse capillaire glomérulaire par des leucocytes.

L'objectif secondaire est d'étudier les caractéristiques histologiques et clinico-biologiques au diagnostic permettant de distinguer les GEM primitives et secondaires.

4 ARTICLE:

GEMPREDICT: Accuracy of a serological and histological combined criterion in the diagnosis of primary membranous nephropathy

Authors : Roger Camille ⁽¹⁾, Gnemmi Viviane ⁽²⁾, Frimat Marie ⁽¹⁾, Vanhille Philippe ⁽³⁾, Cartery Claire ⁽³⁾.

⁽¹⁾ *Nephrology Departement Lille University Hospital*

⁽²⁾ *Pathology Department Lille University Hospital*

⁽³⁾ *Nephrology Department Valenciennes Hospital*

4.1 Introduction

Membranous nephropathy (MN) is a frequent cause of non-diabetic nephrotic syndrome in adults, and leads to end stage renal disease in about 40% of patients after 10 years (115).

MN is characterized by the presence of immune complexes in the subepithelial space and the diffuse thickening of the glomerular basement membrane with IgG and C3 along capillary walls detected by immunofluorescence. Its origin is primary in up to 70% of cases but can also be secondary (SMN) to underlying diseases such as cancer, systemic lupus erythemosis (SLE) and other immunological diseases, infections or drugs (116) (70).

In 1960s, Heymann nephritis model suggested that autoimmunity was the cause of primary membranous nephropathy (PMN) (45). Fifty years later, in 2009, Beck and al. discovered that the M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) on cell surface of podocytes was the major antigen responsible for approximately 70% of PMN (6). PLA2R antigen has been found in glomerular deposits in approximately 69.2 to 76.6% patients with PMN in Northern America and European countries (48,82,85,117,118) and circulating anti-PLA2R autoantibodies (Ab) have been associated with approximately 52.0 to 77.8% patients with PMN (48,55,78,82,119,120). More recently, other targeted antigens responsible for PLA2R negative MN were identified such as THSD7A (59) (accounting for

about 1 to 5 % of PMN), Exostosin 1 and 2 (66) and NELL-1 (67) and contributed to widen our understanding of MN pathophysiology.

PLA2R-Ab remain the main antigenic determinant of PMN and have a high specificity for the diagnosis of MN, as they are not found in other glomerulonephritis (78,89) but this specificity decreases when used to differentiate PMN from SMN (86,107). Being able to distinguish PMN from SMN is crucial as therapeutic strategies are different. Treatment of SMN relies on the management of the underlying cause whereas treatment of PMN include immunosuppressive therapies such as alkylating agents, or biologic agents (106) which can have important side effects, and worsen the underlying disease in case of SMN, especially cancer associated SMN.

Separating PMN from SMN requires extensive clinical, laboratory and radiological evaluation. This extensive workup induces a non-negligible cost, can be invasive, and can postpone treatment. Moreover, there are no clear recommendations on how aggressive the search should be, especially when looking for an occult cancer (89).

Histologic examination, including PLA2R staining, immunofluorescence and immunoglobulin (IgG) subclass analysis on kidney biopsies have proved their usefulness in differentiating PMN from SMN (121). Mesangial or endocapillary hypercellularity (72,93,100) on light microscopy, endothelial tubuloreticular inclusions, “full house” pattern on immunofluorescence, Ig1/IgG2/IgG3 (co)dominance (93,95,122) orientate towards SMN due to SLE or other immunologic diseases whereas IgG1/2 (co) dominance (95), absence of IgG4 staining (123) and inflammatory cells infiltrating the glomeruli (72) orientate towards cancer associated SMN. On the other hand, PLA2R staining, IgG4 (co)dominance and absence of endocapillary/extracapillary proliferation are strongly associated with PMN (93,95,98,122). However, histologic examination is not fully foolproof as PLA2R can also be detected in SMN (73,80,83,108–110,112) or can be lacking in PMN

(6,59,124), IgG dominance can vary through time (92) and crescents can be found in PMN (98,125).

Some authors (114) proposed an algorithm based on histological and biological features in order to help clinicians distinguish PMN from cancer associated SMN. Patients with PLA2R-Ab, IgG4 dominance on kidney biopsy, and less than 8 inflammatory cells per glomeruli would be diagnosed with PMN, and no further investigation would be needed. On the contrary, patients without PLA2R-Ab, with endocapillary hypercellularity or IgG1 IgG2 or IgG3 dominance on kidney biopsy, would need further investigation in order to rule out cancer associated SMN. Yet, this algorithm has never been tested on a population of patients newly diagnosed with MN.

The main objective of our study was to estimate the diagnostic accuracy of a modified histological and biological combined criterion, based on the algorithm suggested by Ronco and Cambier (114) in order to distinguish PMN from SMN. This combined criterion included three items: (i) detection of PLA2R-Ab in serum or PLA2R staining positivity on kidney biopsy, (ii) IgG4 dominance or co-dominance on kidney biopsy, and (iii) absence of endocapillary hypercellularity defined as complete or partial occlusion of capillary loops by leukocytes. A specificity and/or positive predictive values close to 100% could allow clinicians to deal without further investigation.

Our secondary objectives were to describe histological, clinical and biological features associated with PMN and SMN.

4.2 Material and Methods

Data collection and diagnosis:

We conducted a multicentric retrospective cohort study in Northern France. 11 nephrology centers were included and are listed in supplementary Appendix (Table S1). In this area,

all kidney biopsies are centralized and analyzed in one university hospital center (Lille University Hospital). Patients were identified on the basis of renal biopsies reports of Lille Department of Pathology. All patients with a primary diagnosis of MN made on kidney biopsy between 1st January 2010 and 31th of December 2016 were eligible. The diagnosis of MN relied on pathological examination including light microscopy, immunofluorescence and eventually electron microscopy of renal biopsy tissue.

We retrospectively collected clinical information at the time of diagnosis which included: age (years), gender, body mass index (kg/m²), history of smoking, diabetes, hypertension, cancer and diagnosis of thromboembolic events at the time of kidney biopsy.

Biological data at diagnosis included hemoglobin (g/dL), platelets (/mm³), leukocytes (/mm³), serum proteins (g/L), serum albumin (g/L), nephrotic syndrome (defined as serum albumin <30g/L and urine protein creatinine ratio >3g/g), creatinine (mg/L), eGFR (mL/min/1.73m²) using CKD-EPI formula (126), blood urea nitrogen (BUN) (mg/dL), CRP (mg/L), detection of PLA2R antibodies (indirect immunofluorescence assay or ELISA), proteinuria (urine protein creatinine ratio g/g), hematuria (red blood cells count/ 10³/mL), leukocyturia (white blood cells count/ 10³/mL).

PMN was diagnosed after exclusion of secondary causes such as autoimmune diseases (e.g., SLE, rheumatoid arthritis, Sjogren syndrome), infection (e.g., hepatitis B, hepatitis C, syphilis), malignancies (e.g. colon cancer, lung cancer, lymphoma), drugs (e.g., nonsteroidal anti-inflammatory drugs). Clinical and biological investigation to exclude SMN relied on serological testing for ANA, ANCA, HCV, HBV, HIV, syphilis, cryoglobulinemia, complement (CH50, C3, C4), immunoelectrophoresis, combined with a negative clinical, biological and radiological evaluation for any cancer. This definition of PMN is currently considered as gold-standard to diagnose PMN (86,117,121,127).

MN was considered cancer associated if (i) cancer was detected at the time of biopsy after clinical, biological and radiological investigations, (ii) or cancer was detected in the past year before MN diagnosis and was not considered cured, or (iii) cancer was diagnosed in the following year after the diagnosis (95,117,123).

MN was considered secondary to SLE if (i) the patient had a diagnosis of SLE at the time of MN diagnosis, or (ii) if the diagnosis of SLE was made within the year after kidney biopsy. SLE MN was diagnosed using the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) classification (99).

Pathological data collected:

All pathological data were retrospectively collected based on the kidney biopsy report.

Detection of PLA2R and THSD7A on glomerular deposits by immunohistochemical staining:

PLA2R were detected on kidney biopsies using immunohistochemical analysis on formalin-fixed paraffin-embedded tissue cut in 3 µm-thick section. If PLA2R research had not been done at the time of diagnosis (kidney biopsies performed before 2011), PLA2R was searched for retrospectively. PLA2R staining intensity was graded from 0 to 3+.

In normal kidney tissue there is very weak expression of PLA2R on the glomerular podocytes corresponding to 0-1+ or 1+ intensity (48,85). PLA2R was considered present if the rating was above 1+ (Figure 1).

THSD7A was detected on biopsies using immunohistochemical analysis on formalin-fixed paraffin-embedded tissue cut 3 µm-thick section. THSD7A staining was only analyzed on biopsies with a negative staining for PLA2R as cases of dual positivity are uncommon

(<1%) (60,65,128,129). THSD7A was considered positive in case of strong diffuse global granular staining along capillary loops (60) (Figure 2).

Detection of IgG subclasses in glomerular deposits by immunofluorescence:

IgG subclasses were detected on frozen section of kidney biopsies cut in 3 µm thick section, using immunofluorescence staining. IgG staining intensity was graded from 0 to 3+ (Figure 3). An IgG subclass was considered dominant or co-dominant if its rating was above other subclasses (dominance) or had the highest staining intensity equally with one or two other subclasses (co-dominance) (92).

Other pathological information collected:

Data on number of glomeruli, number of sclerotic glomeruli, tubular atrophy, interstitial fibrosis, inflammatory infiltration and C1q staining were also collected. Importance of tubular atrophy, interstitial fibrosis and inflammatory infiltration was assessed using a global scale ranging from (i) absence, (ii) mild (less than 30%), (iii) moderate (30 to 60%) to severe (more than 60 %).

Endocapillary hypercellularity (or endocapillary proliferation) was considered present if complete or partial occlusion of capillary loops by leukocytes was detected (99,130). Extracapillary proliferation was considered present if at least one crescentic formation was detected. Data on MN stages were also collected (except for SLE MN in which MN stages are not usually reported) (131).

Primary outcome:

We calculated sensitivity, specificity, predictive values, likelihood ratios and area under curve of a combined serological and histological criterion including (i) detection of PLA2R-

Ab in serum or PLA2R staining positivity on kidney biopsy, (ii) IgG4 dominance or co-dominance on kidney biopsy, and (iii) absence of endocapillary hypercellularity, to establish the diagnosis of PMN. Absence of one of the sub-criterion above resulted in considering the combined criterion absent.

Secondary Outcomes:

We compared histological, biological and clinical characteristics at diagnosis between PMN and SMN groups.

Statistical Analysis:

Normally distributed variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD), and continuous variables of non-Gaussian distribution were expressed as the median with interquartile range (IQR). Categorical variables were expressed as absolute values and percentages. For continuous variables, comparisons between two groups were performed using Student's test for normally distributed data and Wilcoxon rank-sum test for nonparametric data. For categorical variables, Chi-square, Fisher exact test or Fisher exact test were performed appropriately.

Parametric values of the combined criterion were calculated with a 95% Confident Interval. Statistical testing was conducted at the two-tailed α -level of 0.05. All statistical analyses were used using R software 3.5.2.

Figure 1. Immunohistochemical staining of PLA2R on kidney biopsy

Immunohistochemical rated 0-1+ and considered negative (A), 1-2+ considered positive (B), 2+ (C), 3+ (D).

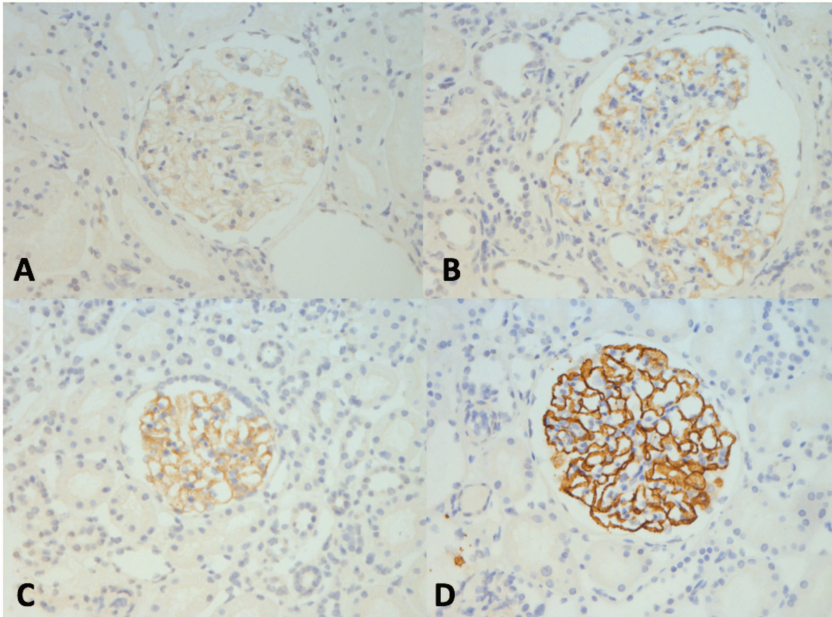


Figure 2. Immunohistochemical staining of THSD7A on kidney biopsy

Immunohistochemical considered negative (A) and considered positive (B)

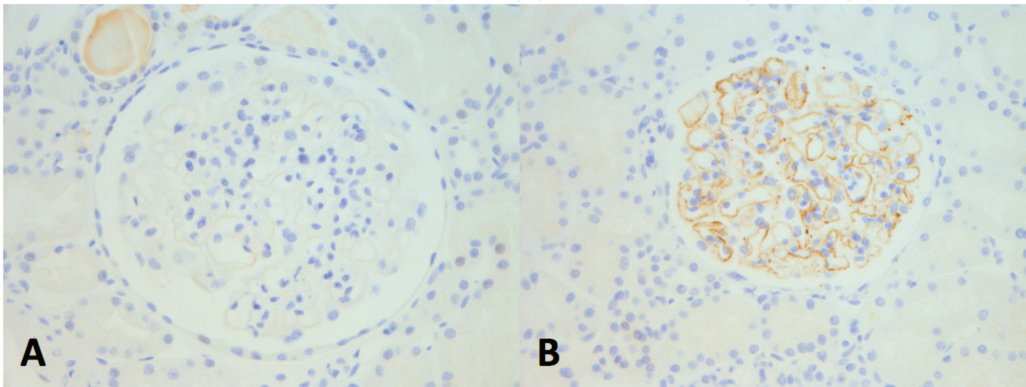
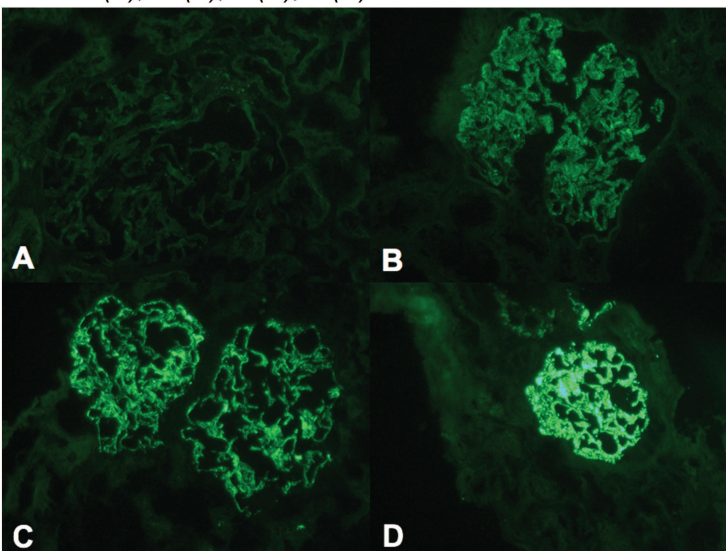


Figure 3. Immunofluorescence staining of IgG subclasses

Rated 0 (A), 1+(B), 2+(C), 3+(D)



4.3 Results

173 consecutive patients with a biopsy proven MN were included (Figure 4) between January 2010 December 2016. 8 (4.6%) biopsies came from transplanted kidneys.

Overall, 53 (30.6%) patients had SMN and 120 (69.4%) had PMN.

Membranous nephropathy was secondary to SLE for 25 (14.45%) patients, other immunological diseases for 7 (4.05%) patients, cancer for 16 (9.25%) patients, graft versus host disease after allogenic bone marrow transplantation for 4 (2.31%) patients and HBV for one patient (0.58%).

Cancers associated with SMN were lung adenocarcinoma for six patients (3.47%), colorectal adenocarcinoma for three patients (1.73%), hematological cancer for three patients (chronic lymphocytic leukemia, myeloblastic leukemia and Non-Hodgkin's lymphoma) (1.73%), esophagus adenocarcinoma for two patients (1.16%), prostatic adenocarcinoma for one patient (0.58%) and neuroendocrine neoplasia for one patient (0.58%). Immunological systemic disease other than SLE responsible for SMN, were ANCA vasculitis for 3 patients (1.73% of SMN), Sjögren syndrome for 2 patients (1.16%), rheumatoid polyarthritis for one patient (0.58%) and scleroderma for one patient (0.58%). One patient (0.58%) had SMN due to hepatitis B antigenemia.

Among the 8 transplanted kidney biopsies 7 were PMN and 1 SLE SMN. 6 cases were recurrence of MN, and 2 cases did not have kidney biopsy before transplantation.

Clinical and biological characteristics associated with PMN and SMN:

Main clinical and biological characteristics at diagnosis are summarized in Table 1.

66 patients were women (38.15%). 87 (50.9%) had a history of hypertension, 24 (13.9%) a history of diabetes and 13 (7.51%) a history of cancer. 44 (29.3%) patients were obese (BMI \geq 30 kg/m²). Mean serum albumin at diagnosis was 25.2 g/L (Standard Deviation: +/-

9.02) and mean eGFR was 76.0 (37.3) mL/min/1.73m². 103 (62.05%) patients had nephrotic syndrome at baseline. Mean proteinuria at diagnosis was 5.75 (4.0) g/g.

Clinical characteristics at baseline associated with PMN are summarized in Table 2 and were masculine sex (p<0.001), higher BMI (p = 0.001), history of hypertension (p=0.014) and absence of cancer history (p<0.001). Patients with PMN also tended to be older than patients with SMN (54 versus 47.8 years old, p=0.050). Baseline biological characteristics associated with PMN were lower serum total proteins (p<0.001), lower serum albumin (p=0.006), higher proteinuria (p<0.001), presence of serum PLA2R-Ab (p<0.001). Nephrotic syndrome was more frequent in the PMN group than in the SMN group (82 patients (71.3%) versus 21 patients (41.2%), OR= 3.51 [95% Confident Interval: 1.77;7.11], p <0.001).

Biological parameters associated with SMN were: lower hemoglobin and platelets count (respectively p=0.018 and p=0.040), and more severe hematuria (p=0.040) (Table 2). Thrombocytopenia and lymphocytopenia were more frequent in the SMN group: 12 (23.1%) versus 3 (2.61%) patients (p<0.001), and 14 (30.4%) versus 5 patients (5.21%) (p<0.001) respectively.

Histological characteristics associated with PMN and SMN:

Histological characteristics at diagnosis are summarized in Table 3. Mean number of glomeruli per biopsy was 18 (7.90) and median number of sclerotic glomeruli was 1.00 [Inter Quartile Range IQR: 0.00;2.00]. Moderate to severe tubular atrophy was found on 31 biopsies (17.9%). Moderate to severe interstitial fibrosis and inflammatory infiltration were found respectively on 33 (19.1%) and 21 (12.14%) biopsies.

PLA2R staining in glomerular deposits:

PLA2R was detected on 91 biopsies (59.9%) including 7 transplant kidney biopsies, with a mean staining of 2.5+ (0.56). 84 patients (77.1%) with PMN, and seven patients (13.20%)

with SMN had a positive PLA2R staining on biopsy. Causes of SMN with PLA2R positive biopsy were SLE (4 biopsies), cancer (2 biopsies) and graft versus host disease (1 biopsy).

THSD7A staining in glomerular deposits:

50 out of 61 PLA2R negative biopsies were analyzed for THSD7A (lack of material for 11 biopsies). THSD7A was detected on four biopsies (8% of PLA2R negative biopsies). Three out of the four biopsies were SMN: 2 cancer associated SMN due to lung adenocarcinoma and one SLE SMN. Only one biopsy was a THSD7A positive PMN.

IgG subclasses in glomerular deposits:

Median staining intensity for IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 subclasses were respectively 2.00 [IQR: 1.00;3.00], 1.00 [0.50;2.00], 1.00 [0.00;1.50] and 3.00 [1.00;3.00].

Main (co)dominant subclass was IgG4 with 91 patients (58.7%). IgG1 was (co)dominant in 53 (34.2%) biopsies, IgG2 and IgG3 in 21 (13.5%) and 17 (11.0%) biopsies respectively.

IgG subclass distribution according to their intensity and (co)dominance are summarized in Table S2.

11 out of 120 patients (9.2%) with PMN had (co)dominant IgG4 but no PLA2R deposition. Both PLA2R and IgG4 were negative in 12 (10%) patients with PMN. All 7 cases of PLA2R positive SMN had IgG4 dominance.

65 (77.4%) patients with PLA2R positive biopsies had IgG4 (co)dominance and 13 (15.5%) had IgG1 (co)dominance (Table 4). Main (co)dominant subclass in PLA2R negative biopsies was IgG1 with 35 (63.6%) biopsies (Table 4).

Concerning the four THSD7A positive MN: both lung adenocarcinoma THSD7A SMN had IgG1 (co)dominance whereas the THSD7A SLE SMN and the THSD7A PMN had IgG4 (co)dominance.

Histological characteristics associated with PMN were detection of PLA2R on biopsy ($p < 0.001$) and IgG4 (co)dominance ($p < 0.001$) (Table 5).

Histological characteristics associated with SMN were: extracapillary proliferation ($p = 0.003$), endocapillary hypercellularity ($p = 0.036$), mesangial proliferation ($p = 0.048$) and IgG1 and IgG2 (co)dominance ($p < 0.001$ and $p = 0.007$ respectively) (Table 5).

When considering SMN due to SLE or other immunological diseases, detection of C1q on biopsy was also statistically associated with SMN: 22 (73.3%) biopsies being positive compared with 42 (36.5%) in PMN ($p = 0.001$) (Table S3).

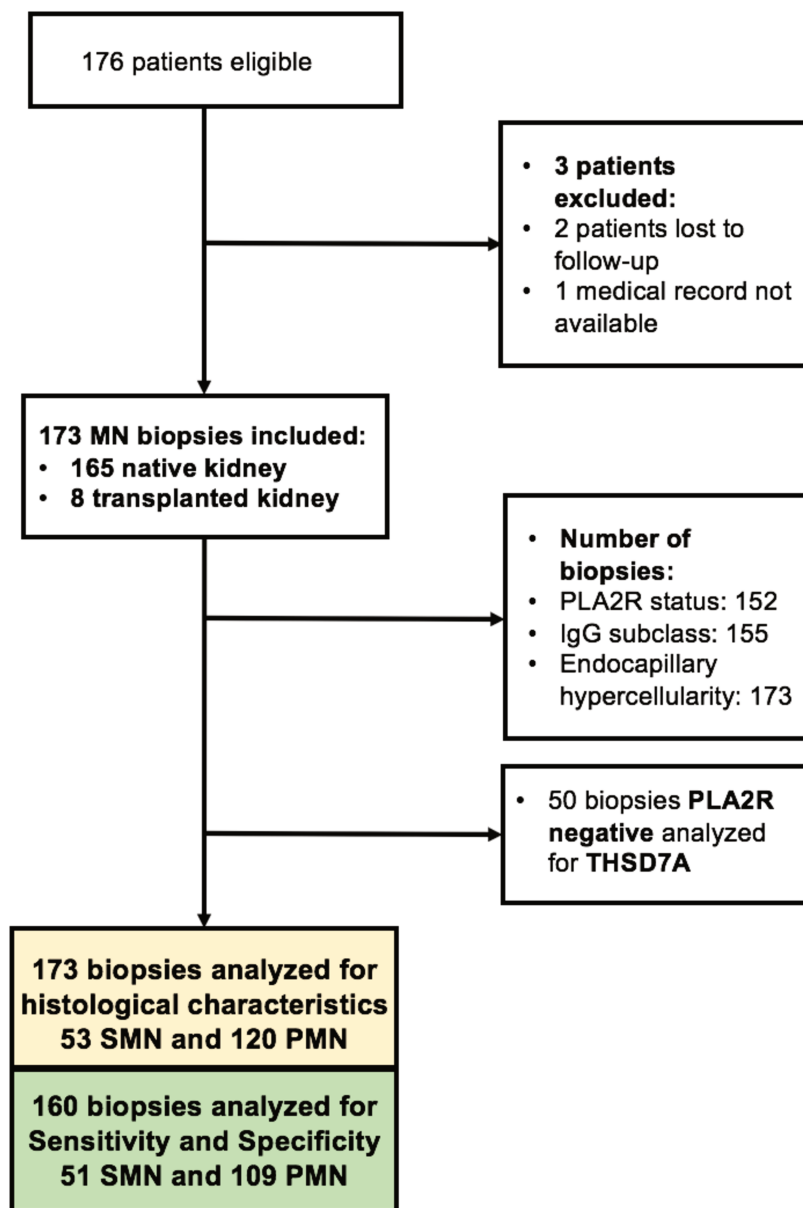
Histological characteristics associated with cancer MN were: absence of PLA2R ($p < 0.001$), absence of IgG4 subclass (co)dominance ($p = 0.006$) and endocapillary hypercellularity ($p = 0.040$) (Table S4).

Parametric values of the combined criterion:

Sensitivity and specificity of PLA2R status (detected on biopsy or PLA2R-Ab in serum) were 0.81 [95% Confident Interval: 0.74-0.88] and 0.85 [0.75-0.95]. Sensitivity and specificity of PLA2R status and IgG4 (co)dominance were 0.65 [0.56-0.74] and 0.92 [0.86-1.00].

Sensitivity and specificity of the combined criterion which included (i) PLA2R status (detected on biopsy or serum PLA2R-Ab), (ii) IgG4 dominance or co-dominance and (iii) no endocapillary hypercellularity, were 0.57 [0.48-0.66] and 0.95 [0.88-1.00]. Positive predictive value of the criterion was 0.95 [0.90-1.00], negative predictive value was 0.50 [0.34-0.60]. Positive and negative likelihood ratios of the combined criterion were 9.68 [3.19-29.37] and 0.50 [0.37-0.57] respectively. ROC curves for PLA2R and combined criterion are represented on Figure 5, with an area under curve (AUC) estimated of 0.83 for PLA2R status and 0.76 for the combined criterion.

Figure 4: Flow chart



Combined criterion: (i) presence of PLA2R on kidney biopsy or PLA2R-Ab in serum (ii) IgG4 dominance or co-dominance on kidney biopsy (iii) absence of endocapillary hypercellularity. Absence of one of the sub criterion resulted in considering the combined criterion absent.

Table 1. Clinical and biological characteristics at diagnosis

Clinical and biological characteristics		N=173
Men	107 (61.8%)	173
Age at diagnosis (years)	52.1 (17.4)	173
BMI (kg/m ²)	27.5 (6.24)	150
Thromboembolic event	14 (8.09%)	173
History of		
Smoking	69 (39.9%)	173
Diabetes	24 (13.9%)	173
Hypertension	87 (50.9%)	171
Cancer	13 (7.51%)	173
Biological characteristics		
Haemoglobin (g/dL)	12.9 (2.08)	170
Platelets (/mm ³)	260 (89.2)	167
Leukocytes (/mm ³)	7.31 (2.41)	166
Lymphocytes (/mm ³)	1.82 (0.91)	162
Hyponatremia	8 (4.88%)	164
Calcium (mg/L)	86.5 (7.69)	152
Serum protein (g/L)	56.2 (10.4)	150
Serum albumin (g/L)	25.2 (9.02)	166
Creatinine (mg/L)	10.0 [7.00;14.40]	171
BUN (mg/dL)	18.2 [14.0;26.6]	164
PLA2R-Ab	66 (54.5%)	121
CRP (mg/L)	3.00 [3.00;7.70]	165
Proteinuria (g/g)	5.75 (4.00)	164
Leukocyturia (10 ³ /mL)	0.00 [0.00;16.5]	152
Hematuria (10 ³ /mL)	12.5 [0.00;53.0]	152

Categorical variables are expressed as number (%); continuous variables are expressed as mean (+/- standard deviation) or median [First quartile -third quartile] depending on the distribution. BMI: Body Mass Index; BUN: Blood Urea Nitrogen

Table 2. Clinical and biological characteristics at diagnosis associated with PMN and SMN

	PMN (N=120)	SMN (N=53)	OR [95% CI]	p value
Men	85 (70.8%)	22 (41.5%)	3.39 [1.73;6.74]	<0.001
Age at diagnosis (years)	54.0 (15.7)	47.8 (20.2)	1.02 [1.00;1.04]	0.050
BMI (kg/m ²)	28.7 (6.41)	25.0 (5.06)	1.13 [1.05;1.21]	<0.001
Thromboembolic event	16 (13.3%)	5 (9.43%)	1.45 [0.53;4.73]	0.637
History of				
Smoking	49 (40.8%)	20 (37.7%)	1.14 [0.59;2.24]	0.830
Diabetes	21 (17.5%)	3 (5.66%)	3.38 [1.09;15.4]	0.066
Hypertension	19 (35.8%)	68 (57.6%)	2.41 [1.24;4.80]	0.014
Cancer	3 (2.50%)	10 (18.9%)	0.12 [0.02;0.41]	<0.001
Biological characteristics				
Hemoglobin (g/dL)	13.2 (2.00)	12.3 (2.16)	1.22 [1.04;1.44]	0.018
Platelets (/mm ³)	271 (78.3)	236 (106)	1.00 [1.00;1.01]	0.040
Leukocytes (/mm ³)	7.47 (2.35)	6.84 (2.58)	1.12 [0.97;1.29]	0.149
Lymphocytes(/mm ³)	1.94 (0.72)	1.58 (1.19)	1.69 [1.05;2.72]	0.063
Hyponatremia	4 (3.45%)	4 (8.33%)	0.40 [0.09;1.82]	0.234
Calcium (mg/L)	84.4 (11.8)	86.6 (15.2)	0.98 [0.95;1.02]	0.385
Serum protein (g/L)	54.3 (10.0)	61.0 (9.96)	0.94 [0.90;0.97]	<0.001
Serum albumin(g/L)	23.9 (8.58)	28.3 (9.36)	0.94 [0.91;0.98]	0.006
Creatinine (mg/L)	10.2 [7.93;15.1]	9.00 [7.00;13.0]	1.00 [0.98;1.01]	0.108
BUN (mg/dL)	18.67 [14;28.93]	17.27 [13.53;21.47]	0.94 [0.70;1.27]	0.203
Serum PLA2R	66 (68.8%)	0 (0.00%)		<0.001
CRP (mg/L)	3.00 [3.00;6.00]	3.00 [3.00;10.8]	0.98 [0.96;1.00]	0.475
Proteinuria (g/g)	6.47 (4.06)	4.12 (3.36)	1.22 [1.08;1.37]	<0.001
Leukocyturia (10 ³ /mL)	0.00 [0.00;15.0]	5.50 [0.00;23.0]	1.00 [0.99;1.00]	0.077
Hematuria (10 ³ /mL)	41.8 (89.1)	120 (239)	1.00 [0.99;1.00]	0.040

OR Odd ratio; 95% CI: 95% Confident Interval; SMN Secondary membranous nephropathy; PMN Primary membranous nephropathy; BMI: Body Mass Index; BUN: Blood Urea Nitrogen

Table 3. Histological characteristics at diagnosis

Histological characteristics		N=173
Glomeruli (n)	18.1 (7.90)	172
Sclerotic glomeruli (%)	7.7 [13.2-20.00]	170
Tubular atrophy		173
absence	77 (44.5%)	
mild	65 (37.6%)	
moderate	23 (13.3%)	
severe	8 (4.62%)	
Interstitial fibrosis		173
absence	63 (36.4%)	
mild	77 (44.5%)	
moderate	22 (12.7%)	
severe	11 (6.36%)	
Inflammatory infiltration		173
absence	110 (63.6%)	
mild	42 (24.3%)	
moderate	12 (6.94%)	
severe	9 (5.20%)	
Endocapillary hypercellularity	41 (23.7%)	173
Extracapillary proliferation	15 (8.67%)	173
Mesangial proliferation	24 (13.9%)	166
PLA2R Ag on biopsy	91 (59.9%)	152
C1q	69 (41.6%)	166
IgG1 staining intensity	2.00 [1.00;3.00]	157
IgG1 (co)dominance	53 (34.2%)	
IgG2 staining intensity	1.00 [0.50;2.00]	156
IgG2 (co)dominance	21 (13.5%)	
IgG3 staining intensity	1.00 [0.00;1.50]	156
IgG3 (co)dominance	17 (11.0%)	
IgG4 staining intensity	3.00 [1.00;3.00]	155
IgG4 (co)dominance	91 (58.7%)	

Categorical variables are expressed as number (%); continuous variables are expressed as mean (+/- standard deviation) or median [First quartile -third quartile] depending on the distribution. Mild: 0 to 30%; moderate: 30 to 60%; severe: >60%. Ag: antigen.

Table 4. IgG (co)dominance distribution according to PLA2R status

	PLA2R Ag negative N=61	PLA2R Ag positive N=91	p value
IgG1 (co)dominance	35 (63.6%)	13 (15.5%)	<0.001
IgG2 (co)dominance	13 (23.6%)	5 (5.95%)	0.005
IgG3 (co)dominance	7 (12.7%)	8 (9.52%)	0.752
IgG4 (co)dominance	18 (32.7%)	65 (77.4%)	<0.001

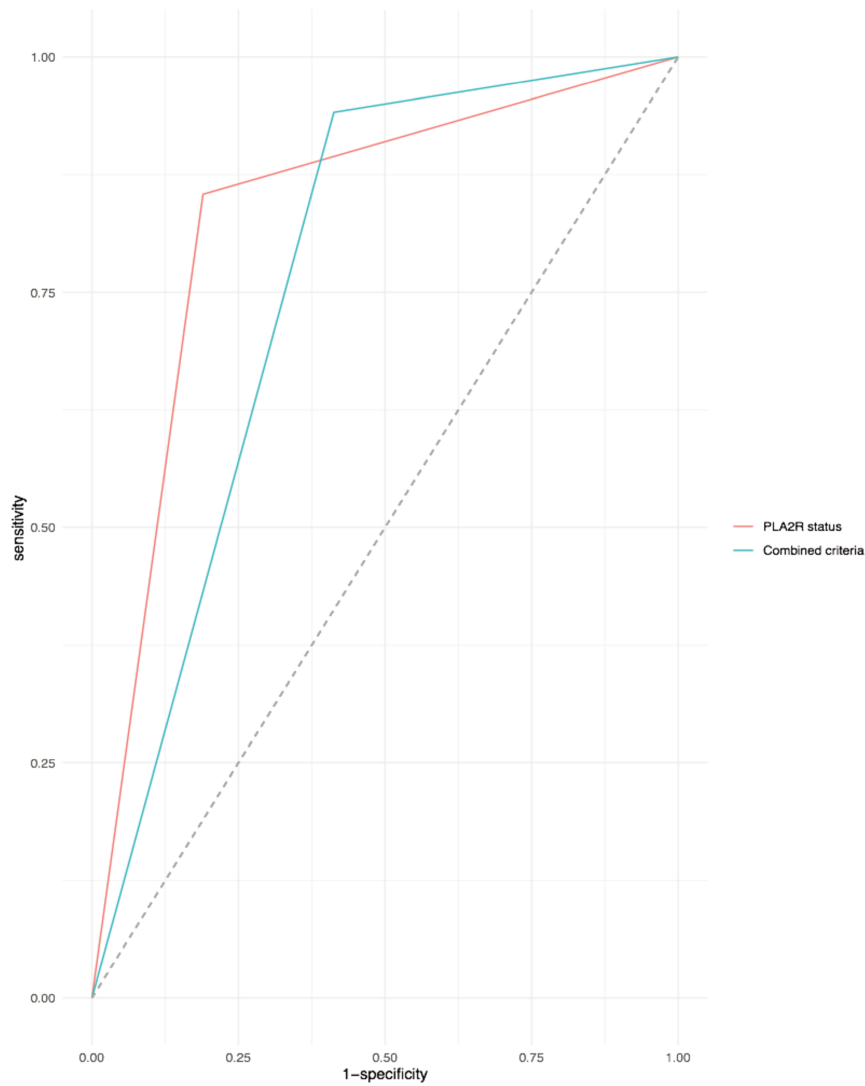
Categorical variables are expressed as number (%). Ag: antigen.

Table 5. Histological characteristics associated with PMN and SMN

	PMN (N=120)	SMN (N=53)	OR [95% CI]	p value
Glomeruli (n)	18.3 (7.91)	17.7 (7.94)	1.01 [0.97;1.05]	0.657
Sclerotic glomeruli (%)	12.5 (16.0)	15.0 (18.3)	0.99 [0.97;1.01]	0.389
Tubular atrophy				0.887
absence	51 (42.5%)	26 (49.1%)		
mild	46 (38.3%)	19 (35.8%)		
moderate	17 (14.2%)	6 (11.3%)		
severe	6 (5.00%)	2 (3.77%)		
Interstitial Fibrosis				0.146
absence	39 (32.5%)	24 (45.3%)		
mild	59 (49.2%)	18 (34.0%)		
moderate	13 (10.8%)	9 (17.0%)		
severe	9 (7.50%)	2 (3.77%)		
Inflammatory Infiltration				0.553
absence	79 (65.8%)	31 (58.5%)		
mild	29 (24.2%)	13 (24.5%)		
moderate	7 (5.83%)	5 (9.43%)		
severe	5 (4.17%)	4 (7.55%)		
Endocapillary hypercellularity	13 (10.8%)	13 (24.5%)	0.38 [0.16;0.89]	0.036
Extracapillary proliferation	5 (4.17%)	10 (18.9%)	0.19 [0.06;0.58]	0.003
Mesangial proliferation	12 (10.0%)	12 (22.6%)	0.38 [0.16;0.93]	0.048
PLA2R Ag on biopsy	84 (77.1%)	7 (16.3%)	16.6 [6.91;45.6]	<0.001
C1q	42 (36.5%)	27 (52.9%)	0.51 [0.26;1.00]	0.080
IgG1 (co)dominance	24 (22.0%)	29 (63.0%)	0.17 [0.08;0.35]	<0.001
IgG2 (co)dominance	9 (8.26%)	12 (26.1%)	0.26 [0.10;0.67]	0.007
IgG3 (co)dominance	11 (10.1%)	6 (13.0%)	0.74 [0.26;2.33]	0.798
Ig4 (co)dominance	79 (72.5%)	12 (26.1%)	7.30 [3.41;16.6]	<0.001

OR Odd ratio; 95% CI: 95% Confident Interval; SMN: Secondary membranous nephropathy; PMN: Primary membranous nephropathy; mild: 0 to 30%; moderate: 30 to 60%; severe: >60%. Ag: antigen.

Figure 5: ROC curves for PLA2R status and combined criterion



PLA2R status: PLA2r-Ab in sera or PLA2R positive staining on biopsy; combined criterion: (i) Positive PLA2R status, (ii) IgG4 (co)dominance, (iii) absence of endocapillary hypercellularity

4.4 Discussion

Our study aimed to estimate the diagnosis accuracy of a modified histological and serological combined criterion, based on the algorithm suggested by Ronco and Cambier (114) in order to establish the diagnosis of PMN and rule out SMN. The combined criterion tested included three items: (i) presence of PLA2R-Ab in serum or PLA2R staining positivity on kidney biopsy, (ii) IgG4 dominance or co-dominance on kidney biopsy, and (iii) absence of endocapillary hypercellularity defined as complete or partial occlusion of capillary loops by leukocytes. Our results show that sensitivity and specificity of this combined criterion were respectively 0.57 [95% CI: 0.48-0.59] and 0.95 [95% CI: 0.88-1.00]. The sensitivity for PLA2R status alone (biopsy or PLA2R-Ab in serum) was 0.81 [95% CI: 0.74-0.88] whereas specificity fell to 0.85 [0.75-0.95]. Notably, IgG4 (co)dominance combined with PLA2R status also showed high specificity of 0.92 [0.86-1.00], probably revealing that these two criteria remain the most relevant histological clues to exclude SMN. On a larger scale, the combined criterion could help decreasing the number of false positive patients and could be useful to strongly rule out SMN, compared to IgG4 or PLA2R status alone.

Since its discovery in 2009, several medical articles argued that PLA2R serology could replace kidney biopsy for the diagnosis of MN (89,132). Recent recommendations suggested a diagnosis algorithm in which clinicians can diagnose MN without kidney biopsy (106). For low risk patients defined as patients with proteinuria < 3.5g/g, with normal eGFR and without low-molecular-weight proteinuria or urine IgG <250mg/day, the diagnosis of MN could be made with PLA2R serology alone. When applied to our population, only 23 (13.3%) low risk patients were concerned, leaving kidney biopsy and histologic examination the main tool to diagnose MN.

PLA2R-Ab have never been associated with a glomerulonephritis other than MN (25,78) and thus display a specificity close to 100% for the diagnosis of MN (132). However circulating PLA2R-Ab specificity for the diagnosis of PMN versus SMN, can decrease to 70% (86). In a Chinese retrospective study of 195 patients, Lin and al. found that 70% of SMN had a PLA2R positive staining (107). Indeed, detection of PLA2R-Ab or PLA2R biopsy positivity have already been found in MN secondary to VHB (109), sarcoidosis (110,111), lupus (86,123) or other immunological diseases (112) and cancer (83,86,108,123). In a recent study Wang and al found that PLA2R-Ab were present in 18 out of 44 patients (41%) with cancer associated SMN (128) and Zhang et al. found that 33% of cancer associated MN had a positive PLA2R staining on biopsy (133).

In our study, 7 (4.0%) patients had SMN with PLA2R detected on biopsy (of whom 2 cancer associated SMN), whereas only 3 patients (1.7%) had a positive combined criterion. Thus, PLA2R-status alone should not be used to rule out SMN.

Pathophysiological hypothesis to explain the presence of PLA2R positive status in SMN remain unclear. Infections, cancer or immunological diseases could induce an immune response to PLA2R, representing a disease-precipitating “second hit” in a patient immunologically and genetically predisposed to develop MN (78). In cancer associated SMN, it could be due to the coincidental presence of two distinct pathologies, or secondary to aberrant expression of PLA2R epitopes by the tumor cells leading to autoimmunity and PMN.

We chose to look at THSD7A status only on PLA2R negative status biopsies as dual positivity are unusual (60,65,128,129). Our results confirm the high prevalence of cancer associated MN with positive THSD7A staining. Indeed, two (50%) patients with THSD7A SMN had lung adenocarcinoma. In a study which included 40 patients with THSD7A MN, Hoxha and al. found that eight patients (40%) were diagnosed with a cancer with a median

time of three months (20). The association between THSD7A positive MN and cancer has been confirmed in several other studies with an incidence of cancer varying from 6 to 25% (20). These results prompt us to encourage the search of cancer in case in case of THSD7A positive MN (11,89). Several cases reported enhanced staining of THSD7A on tumor cells, normally absent from tissues, in different cancers (gallbladder neuroendocrine tumor, endometrial and colic adenocarcinomas) (20,104,134). Interestingly, treatment of cancer with chemotherapy or surgery induced a decline in THSD7A-Ab followed by a decrease in proteinuria (104,134). These different findings are in favor of a causal link between malignancy and MN and gave new insights into cancer associated MN. Our results also confirm the relatively low prevalence of THSD7A positive MN in European countries, which seem to be inferior to Japanese patients (approximately 9%) (61).

In our study, histological features associated with PMN were PLA2R on biopsy ($p < 0.001$), and IgG4 dominance or co-dominance ($p < 0.001$). These results are consistent with prior studies which showed that the detection of PLA2R and dominance of IgG4 subclass are strongly associated with PMN (83) (121).

In our study IgG1 and IgG2 dominance or co-dominance ($p < 0.001$ and $p = 0.007$ respectively) were associated with SMN and more particularly with SLE and other immunological diseases; results that are in accordance with several other studies (93,93,100,122). Hemminger and al. (97) showed that polyclonal IgG1 deposition and weak or absence of IgG4 were associated with autoimmune disease. IgG1 can activate the classical complement pathway and trigger podocytes damages leading to important proteinuria possibly explaining the more frequent detection of C1q in cases of SLE SMN (Table S3).

Our results showed that absence of PLA2R staining and absence of IgG4 subclass (co)dominance were associated with cancer SMN. Other studies also suggested that

absence of IgG4 on kidney biopsy was strongly associated with SMN due to cancer (123)(135), possibly translating the low rate of PLA2R positive cancer associated SMN. Of notice, IgG1 and IgG2 (co)dominance tended to be more frequent in the cancer associated MN group compared to the PMN group ($p=0.055$ and $p=0.052$ respectively). Statistical significance might may not have been reached due to lack of power secondary to the small number of patients in the SMN group. These differences have also been found by Ohtani and al.(95) and have potential immunological implications with a Th1 (IL12 and interferon γ driven) related system involved in SMN and a Th2 (IL-4 driven) related isotype in PMN (95).

Other histological characteristics associated with SMN were extracapillary proliferation ($p=0.003$), mesangial proliferation ($p=0.048$) and endocapillary hypercellularity ($p=0.036$). Indeed, following the results of Lefaucheur and al., our study showed that endocapillary hypercellularity was statistically associated with cancer SMN (Table S4), but also with SMN all causes included (Table 2 and Table S4), proving it to be a relevant factor to distinguish PMN from SMN. In their study, Lefaucheur and al. suggested that “8 inflammatory cells per glomeruli or more” would be an acceptable cut-off to distinguish PMN from cancer associated SMN. We chose to look at the criteria “endocapillary hypercellularity” instead of the number of inflammatory cells per glomeruli as it is not a routine analysis performed by pathologists. Moreover, the 8 cells cut-off number was only found in one study with few patients (24 patients with cancer associated SMN) and has not yet been confirmed in another study. We chose the mostly used definition of “endocapillary hypercellularity” as described in the BANFF Classification (130). One should point out that the initial study (72) was based on cancer associated SMN alone, whereas in our study, sensitivity and specificity were calculated for all causes of SMN. Indeed, we chose to test the parametric values of the combined criterion when applied on any MN biopsy to

evaluate its usefulness in daily routine. When calculated to exclude cancer associated SMN only, specificity and sensitivity of the combined criterion could be higher.

Interestingly, our results show that mesangial proliferation was also associated with SMN ($p = 0.048$). This result could be explained by the relatively high number of SMN due to SLE (25 biopsies, 47% of SMN) found in our study, including 8 kidney biopsies that showed histologic features of mesangial and proliferative lupus nephritis. C1q staining was also strongly associated with SLE SMN in the subgroup analysis (OR: 4.68 [1.97;12.2], $p = 0.001$), as shown in previous studies (100). Other histopathological clues such as presence of subendothelial and mesangial deposits, tubuloreticular structures in the glomerular endothelial cells could also guide clinicians towards SLE MN diagnosis (97).

PLA2R and THSD7A positivity with SLE SMN have seldom been described (65,83) and these entities are considered to have different pathophysiological origins. In our study four out of the seven patients with PLA2R positive SMN had SLE and one patient with SLE had a positive THSD7A staining. All five patients had IgG4 (co)dominance. Possible explanation could be a coincidental occurrence of both diseases or an auto-immunity runaway triggered by SLE in genetically predisposed patients to MN. Interestingly all five patients with positive PLA2R and THSD7A staining MN had crescentic MN; one may also assume that immune complexes found in SLE could damage the glomerular basement membrane and could expose epitopes that would lead to PLA2R or THSD7A immunization.

Crescentic proliferation was also another histological characteristic strongly associated with SMN. Prevalence of crescentic MN was particularly high in our study (9.8%) compared to the other studies (0.1-0.3%) (98,103,125). MN with crescents are more frequently associated with SMN than PMN in scientific literature (98,103,125). In our study, there were 10 biopsies with extracapillary proliferation in the SMN group with 6 SLE, 3

ANCA vasculitis and one cancer, prompting the search for secondary causes in case of MN with crescents (4.1%). However, five patients had extracapillary proliferation in the PMN group and four patients out of five had a positive PLA2R staining on biopsy. PMN with crescents have already been described in other studies (136) and are associated with worst renal outcomes (98,137).

Our results also show that baseline clinical and biological characteristics could be useful to help distinguish PMN from SMN. Patients in the PMN group tended to be older men with history of hypertension and with higher BMI ($p < 0.001$, $p = 0.014$, $p < 0.001$ respectively). We observed that SMN patients had lower hemoglobin ($p = 0.018$), lower platelets ($p = 0.004$), and frequent lymphocytopenia ($p < 0.001$). These differences could be due to the high number of patients with SLE or other immunological diseases in the SMN group (32 patients, 60.38%). SLE patients may present autoimmune cytopenias such as thrombopenia and anemia at diagnosis. Likewise, patients with cancer may also present with cytopenias at diagnosis, secondary to hematological cancer or thrombotic microangiopathy, partially explaining these differences.

Interestingly, a nephrotic syndrome was more frequently found at diagnosis in the PMN group than in the SMN group partially explaining the higher BMI in the PMN group (25.0 kg/m^2 versus 28.7 kg/m^2). PLA2R MN have been associated with higher proteinuria than PLA2R negative MN (80,107) but mechanisms explaining this difference remain unclear. SMN patients could have earlier diagnosis due to extra-renal symptoms prompting them to consult, contrary to PMN patients whose edemas can go unnoticed for several weeks or months. PMN patients had less severe hematuria than SMN patients ($41.810^3/\text{mL}$ versus $120 \cdot 10^3/\text{mL}$) possibly due to the less frequent extracapillary proliferation in this group. Indeed, when comparing hematuria according to extracapillary proliferation status, this

difference was emphasized: 55.5 (128) versus 151 (296) red blood cells $10^3/\text{mL}$) respectively $p=0.044$).

These clinical and biological results could be used as a second step to help distinguish PMN from SMN. Building a histological, clinical and biological score, using the most relevant variables statistically associated with PMN and SMN at diagnosis, could be particularly useful in order to help clinicians differentiating PMN from SMN. This score would need to be built on a larger cohort than ours and be secondarily validated on an external cohort.

The main information lacking in our study, is the biopsy status towards Exostosin1-2, and NELL-1. These data could have been valuable in order to distinguish PMN from SMN. Building a new algorithm using detection of these antigens could definitely help close the debate. However, detection of these different is not yet routinely obtained in all nephrology centers whereas immunoglobulin subclass analysis and PLA2R status are.

Another limitation in our study, was the definition used for cancer associated SMN. According to Cambier and Ronco (114) the diagnosis of paraneoplastic glomerulonephritis should rely on three major criteria: (i) clinical remission should occur after cancer treatment (ii) clinical relapse should occur after cancer recurrence (iii) detection of tumor antigens and antitumor antibodies within subepithelial immune deposits should be obtained. In most studies, including ours, these criteria were not met (86).

Our study showed that the combination of three factors (PLA2R status, IgG4 (co)dominance, absence of endocapillary hypercellularity) had a high specificity of 0.95 [0,88-1.00] and a high positive predictive value 0.95 [0,90-1.00], decreasing the risk of false positive PMN diagnosis. Detection of this combined criterion could be particularly relevant to rule out SMN and conclude to PMN, avoiding costly and time-consuming complementary exams. The counterpart to a high specificity of this combined criterion its

low sensitivity and high rate of falsely negative patients. In summary, patients with a positive combined criterion should not undergo an extensive workup for cancer beyond age-appropriate tests, whereas negative cases require closer surveillance.

Supplementary Appendix

Table S1: List of Hospitals/Clinics which participated in the study

Lille University Hospital
Valenciennes Hospital
Bethune Hospital,
Dunkerque Hospital
Boulogne-sur-Mer Hospital
Cambrai Hospital
Douai Hospital
Roubaix Hospital
Bois Bernard Private Hospital
Bois Blanc Private Hospital
Louvière Private Hospital

Table S2. IgG subclass intensity distribution and (co)dominance

IgG subclass	0+	0-1+	1+	1-2+	2+	2-3+	3+	(co)dominant	NA
IgG1	4 (2.55%)	8 (5.10%)	32 (20.4%)	9 (5.73%)	44 (28.0%)	14 (8.92%)	46 (29.3%)	53 (34.2%)	16 (10.20%)
IgG2	37 (23.7%)	11 (7.05%)	50 (32.1%)	11 (7.05%)	30 (19.2%)	5 (3.21%)	12 (7.70%)	21 (13.5%)	17 (10.90%)
IgG3	48 (30.8%)	13 (8.33%)	45 (28.8%)	12 (7.69%)	21 (13.5%)	2 (1.28%)	15 (9.61%)	17 (11.0%)	17 (10.90%)
IgG4	30 (19.4%)	2 (1.29%)	25 (16.1%)	2 (1.29%)	12 (7.74%)	5 (3.23%)	79 (51.00%)	91 (58.7%)	18 (11.54%)

Variables are expressed as number and percentage: n (%); NA: missing datas

Table S3: Histological characteristics of PMN and SMN* due SLE and other immunological diseases:

	PMN (N=120)	SMN* N=32	OR [95%CI]	p value
Glomeruli (n)	18.3 (7.91)	18.4 (7.67)	1.00 [0.95;1.05]	0.981
Sclerotic glomeruli (%)	12.5 (16.0)	11.6 (12.0)	1.00 [0.97;1.02]	0.732
Tubular atrophy:				0.798
absence				
mild	46 (38.3%)	11 (34.4%)		
moderate	17 (14.2%)	3 (9.38%)		
severe	6 (5.00%)	1 (3.12%)		
Interstitial fibrosis:				0.145
absence	39 (32.5%)	17 (53.1%)		
mild	59 (49.2%)	10 (31.2%)		
moderate	13 (10.8%)	4 (12.5%)		
severe	9 (7.50%)	1 (3.12%)		
Inflammatory infiltration:				0.247
absence	79 (65.8%)	18 (56.2%)		
mild	29 (24.2%)	7 (21.9%)		
moderate	7 (5.83%)	3 (9.38%)		
severe	5 (4.17%)	4 (12.5%)		
Endocapillary hypercellularity	13 (10.8%)	8 (25.0%)	2.74 [0.97;7.34]	0.048
Extracapillary proliferation	5 (4.17%)	9 (28.1%)	8.70 [2.70;31.4]	<0.001
Mesangial proliferation	12 (10.0%)	11 (34.4%)	4.65 [1.78;12.2]	0.002
PLA2R Ag on biopsy	84 (77.1%)	4 (14.8%)	0.05 [0.01;0.16]	<0.001
C1q	42 (36.5%)	22 (73.3%)	4.68 [1.97;12.2]	0.001
IgG1 (co)dominance	24 (22.0%)	22 (81.5%)	14.9 [5.41;49.2]	<0.001
IgG2 (co)dominance	9 (8.26%)	8 (29.6%)	4.61 [1.53;13.8]	0.006
IgG3 (co)dominance	11 (10.1%)	4 (14.8%)	1.58 [0.39;5.18]	0.497
IgG4 (co)dominance	79 (72.5%)	4 (14.8%)	0.07 [0.02;0.20]	<0.001

OR Odd ratio; 95% CI: 95% Confident Interval; SMN Secondary membranous nephropathy; PMN: Primary membranous nephropathy; mild: 0 to 30%; moderate: 30 to 60%; severe: >60%. Ag: antigen.

Table S4: Histological characteristics of PMN and cancer associated SMN*:

	PMN (N=120)	SMN* (N=16)	OR [95% CI]	p value
Glomeruli (n)	18.3 (7.91)	15.7 (7.02)	0.95 [0.89;1.03]	0.181
Sclerotic glomeruli (%)	12.5 (16.0)	22.9 (25.8)	1.03 [1.00;1.05]	0.134
Tubular atrophy:				0.478
absence	51 (42.5%)	4 (25.0%)		
mild	46 (38.3%)	8 (50.0%)		
moderate	17 (14.2%)	3 (18.8%)		
severe	6 (5.00%)	1 (6.25%)		
Interstitial fibrosis				0.168
absence	39 (32.5%)	3 (18.8%)		
mild	59 (49.2%)	7 (43.8%)		
moderate	13 (10.8%)	5 (31.2%)		
severe	9 (7.50%)	1 (6.25%)		
Inflammatory infiltration				0.318
absence	79 (65.8%)	8 (50.0%)		
mild	29 (24.2%)	6 (37.5%)		
moderate	7 (5.83%)	2 (12.5%)		
severe	5 (4.17%)	0 (0.00%)		
Endocapillary hypercellularity				0.040
hypercellularity	13 (10.8%)	5 (31.2%)	3.73 [1.01;12.4]	
Extracapillary proliferation				0.535
Extracapillary proliferation	5 (4.17%)	1 (6.25%)	1.68 [0.06;12.0]	
Mesangial proliferation				1.000
Mesangial proliferation	12 (10.0%)	1 (6.25%)	0.67 [0.03;3.89]	
PLA2R Ag on biopsy				<0.001
PLA2R Ag on biopsy	84 (77.1%)	2 (18.2%)	0.07 [0.01;0.31]	
C1q				0.894
C1q	42 (36.5%)	5 (31.2%)	0.80 [0.23;2.41]	
IgG1 (co)dominance				0.055
IgG1 (co)dominance	24 (22.0%)	7 (46.7%)	3.07 [0.97;9.60]	
IgG2 (co)dominance				0.052
IgG2 (co)dominance	9 (8.26%)	4 (26.7%)	4.03 [0.93;15.2]	
IgG3 (co)dominance				1.000
IgG3 (co)dominance	11 (10.1%)	1 (6.67%)	0.71 [0.03;4.21]	
IgG4 (co)dominance				0.006
IgG4 (co)dominance	79 (72.5%)	5 (33.3%)	0.20 [0.06;0.61]	

OR Odd ratio; 95% CI: 95% Confident Interval; SMN Secondary membranous nephropathy; PMN Primary membranous nephropathy; mild: 0 to 30%; moderate: 30 to 60%; severe: >60%. Ag: antigen.

5 DISCUSSION GENERALE:

Nous avons testé l'efficacité d'un critère biologique et histologique combiné modifié, basé sur l'algorithme proposé par Cambier et al. (114) dans une cohorte rétrospective de patients avec diagnostic histologique de GEM. Ce critère incluait : (i) la détection de PLA2R sur les biopsies ou d'Ac anti PLA2R sériques, (ii) la (co)dominance de la sous-classe IgG4 et (iii) l'absence d'hypercellularité endocapillaire. A notre connaissance, aucune étude n'avait encore testé l'algorithme proposé par Cambier et al. pour retenir le diagnostic de GEM primitive.

La spécificité et la valeur prédictive positive de ce critère combiné sont élevées : 0.95 [0.88-1.00] et 0.95 [0.90-1.00] respectivement. La détection de ce critère combiné est en faveur d'une GEM primitive, et pourrait permettre aux cliniciens de limiter la réalisation d'exams complémentaires coûteux et chronophages, à la recherche de néoplasie notamment. En revanche, compte-tenu de sa faible sensibilité et valeur prédictive négative 0.57 [0.48-0.66] et 0.50 [0.34-0.60] respectivement, son absence ne doit pas faire éliminer le diagnostic de GEM primitive.

Plusieurs modifications vis-à-vis de l'algorithme proposé dans l'article princeps ont été réalisées dans notre étude. Ainsi nous avons choisi de nous intéresser à l'hypercellularité endocapillaire (ou prolifération endocapillaire) définie par l'occlusion partielle ou totale d'au moins une anse capillaire glomérulaire par des leucocytes (130), plutôt qu'au nombre de cellules inflammatoires infiltrant les glomérules. Ce choix discutable était essentiellement motivé par l'absence de décompte des cellules inflammatoires par glomérule réalisé en pratique quotidienne, tandis que le statut vis-à-vis de la prolifération endocapillaire (présence/absence) est systématiquement décrit. De plus le seuil de 8 cellules a, à notre connaissance, été décrit dans une seule étude avec peu de patients (24 patients) (72). En contrepartie, il est possible que le critère d'hypercellularité endocapillaire soit moins

sélectif que celui de 8 cellules inflammatoires par glomérule. Un travail de relecture des biopsies est en cours afin de déterminer le nombre de cellules inflammatoire par glomérule dans les biopsies avec hypercellularité endocapillaire.

De plus, nous avons choisi de nous intéresser à la (co)dominance IgG4 plutôt que la prédominance IgG4 seule. La (co)dominance est définie par la prédominance seule d'une sous-classe d'IgG ou la codominance avec une ou deux autres sous-classes d'IgG sur la biopsie rénale. Huang et al. (92) furent les premiers à introduire la notion de (co)dominance de sous-classes d'IgG et montrèrent que la (co)dominance IgG4 était associée aux GEM primitives (76% des cas), alors que la (co)dominance IgG1 était associée aux GEM secondaires (60% des cas).

Cette notion de (co)dominance a ensuite été reprise dans différentes études successives et a montré son utilité dans la différenciation entre GEM primitive et secondaire (97,127).

Etudier la (co)dominance des sous-classes plutôt que la dominance seule permet d'augmenter la sensibilité de ce paramètre. A titre d'exemple, dans notre étude, la sensibilité de la prédominance d'IgG4 dans le diagnostic de GEM primitive était de 0.56 [0.47-0.65] contre une sensibilité de 0.74 [0.65-0.82] en cas d'analyse de (co)dominance.

Il en résulte que nos résultats doivent être interprétés en tant que (co)dominance et non prédominance. Cette distinction est particulièrement importante dans l'analyse du résultat de la (co)dominance IgG2. En effet dans notre étude, parmi les 21 biopsies avec (co)dominance IgG2 seuls 2 biopsies présentaient une prédominance IgG2 seule. Dans les 19 autres cas, il s'agissait d'une (co)dominance, avec 9 cas de (co)dominance IgG1/IgG2 et 6 cas de (co)dominance IgG1/IgG2/IgG3. Ce sont donc les codominances IgG1/IgG2 ou IgG1/IgG2 /IgG3 qui seraient associées aux GEM secondaires plutôt que la prédominance IgG2 seule, avec un rôle majeur joué par la sous-classe IgG1 dans la significativité de ce facteur.

De plus, lorsque nous analysons l'association entre l'intensité de marquage des sous-classes d'IgG (en tant que variable continue) et les GEM primitives/secondaires, seules IgG1 était associée aux GEM secondaires et IgG4 aux GEM primitives ($p = 0.010$ et $p < 0.001$ respectivement). Ces deux sous-classes sont ainsi probablement celles permettant le mieux de dichotomiser les GEM primitives des secondaires.

Nous avons choisi de regarder le statut PLA2R en intégrant la détection de l'Ag PLA2R au niveau de la biopsie en plus des Ac anti PLA2R sériques, proposés initialement dans l'algorithme. Ce choix nous a semblé d'autant plus pertinent que notre étude est rétrospective et inclut des patients dont le diagnostic avait été fait avant que la sérologie PLA2R ne soit disponible en routine. Nous avons ainsi fait une relecture de certaines biopsies pour lesquelles la recherche de l'Ag PLA2R n'avait pas été réalisée. Choisir ce critère permettait une fois encore d'augmenter la sensibilité vis-à-vis du statut PLA2R (48,85,118). En effet, en fonction de l'activité de la pathologie, les Ac anti PLA2R peuvent être négatifs avec une détection positive seule de PLA2R au niveau des biopsies (48,78,85,138).

Le seuil de positivité de PLA2R en immunohistochimie au niveau de la biopsie rénale est rarement discuté dans les articles mais peut apparaître comme « anatomopathologiste dépendant » lorsque l'intensité détectée est faible. En effet il existe une expression physiologique faible de PLA2R au niveau podocytaire membranaire (10-30% des récepteurs) et cytoplasmique (70-90%) dû à l'endocytose du récepteur (90). Celle-ci doit être considérée comme un « bruit de fond » (Figure 1 de l'article). Seule l'expression renforcée « enhanced staining » au niveau des dépôts sous-épithéliaux doit être considérée comme positive (82,89), mais cette distinction peut s'avérer difficile.

Dans notre étude nous avons choisi de considérer comme PLA2R positives les biopsies avec intensité de PLA2R strictement supérieure à 1, soit 91 biopsies (près de 60%). Avec

ce seuil, la sensibilité et spécificité du critère Ag PLA2R seul dans le diagnostic de GEM primitive était de 0.77 [0.69-0.88] et 0.84 [0.73-0.95] respectivement. Considérer comme positives les biopsies avec détection de PLA2R entre 0 et 1+ (109 patients soit 72% des patients) aboutissait à une sensibilité proche de 0.84 [0,78-0.91] mais à une spécificité moindre de 0.60 [0.46-0.75], inférieure à celle décrite dans la littérature (48,82,85,118,139).

Dans notre étude, 16 patients avaient un diagnostic de GEM secondaire à un cancer, soit 9% des GEM rapportées, ce qui est en accord avec les prévalences retrouvées dans la littérature (5 à 20%) (140). Cependant, certains auteurs remettent en question l'association GEM et cancer arguant du fait que la recherche systématique et intensive de cancer lors du diagnostic de GEM pourrait aboutir à un biais de sur-diagnostic. En effet GEM et cancer ont la même population cible (patients d'âge > 60 ans, sexe masculin). Ce biais de sur-diagnostic est particulièrement probant dans l'étude Danoise de Birkland et al.(141) qui retrouvait un sur-risque de cancer au moment du diagnostic mais qui se normalisait 5 ans après le diagnostic. A l'inverse une étude Norvégienne retrouvait un sur-risque significatif proche de 2.5 persistant 5 ans après le diagnostic de GEM (142).

La physiopathologie permettant d'expliquer le lien entre cancer et GEM pourrait impliquer plusieurs mécanismes (58) : (i) le dépôt d'antigènes provenant de la tumeur au niveau glomérulaire avec la formation secondaire de complexes Ac-Ag tumoraux (*antigène planté*) (58), (ii) le dépôts de complexes immuns circulants à partir d'Ag provenant de la tumeur (iii) la reconnaissance par des Ac anti tumoraux d'antigènes podocytaires structurellement proches des antigènes tumoraux (mimétisme antigénique), (iv) l'expression aberrante d'Ag présents au niveau podocytaire par les cellules tumorales avec immunisation secondaire ou (v) la présence d'un facteur extrinsèque à l'origine des deux pathologies (virus oncogénique, altération du système immunitaire).

Plusieurs cas de GEM associées à des cancers avec Ac anti PLA2R ont été décrits (83,133,139). L'imputabilité du cancer dans la genèse de la GEM PLA2R positive reste controversée, beaucoup d'auteurs considérant que ces deux pathologies sont indépendantes et se retrouvent parfois de manière coïncidente chez un même patient (83,108,143). Dans notre étude, 2 patients avaient une GEM associée un cancer et une positivité de PLA2R à la biopsie avec prédominance de la sous-classe IgG4. Un premier patient était atteint d'un adénocarcinome œsophagien et le second d'un adénocarcinome colique. Dans les deux cas le diagnostic de néoplasie était posé dans les 6 mois après la découverte de GEM, lors du bilan étiologique à la recherche d'une cause secondaire. Les 2 patients sont décédés dans l'année suivant le diagnostic de GEM et les critères permettant de conclure définitivement à une GEM paranéoplasique n'ont donc pas pu être obtenus (rémission de protéinurie après traitement du cancer, rechute protéinurique en regard d'une récurrence de cancer). Il n'est donc pas possible de conclure à l'absence d'indépendance entre ces deux pathologies de manière formelle chez ces patients.

Au-delà d'une association fortuite entre PLA2R et cancer, il serait possible d'envisager que les GEM PLA2R positives soient induites par le cancer. PLA2R jouerait un rôle important dans la sénescence cellulaire et l'apoptose des cellules tumorales (144–147). Une surexpression de PLA2R pourrait avoir lieu au niveau des cellules tumorales en réponse à un stress oncologique. S'en suivrait une réponse immunologique avec la reconnaissance de PLA2R au niveau tumoral comme antigène étranger aboutissant à la synthèse d'Ac anti-PLA2R et à leur liaison *in situ* aux Ag podocytaires. Un travail de recherche d'expression aberrante de PLA2R au niveau de la tumeur primitive chez les deux patients avec GEM PLA2R positive est en cours.

De manière analogue, certains cas de surexpression de THSD7A au niveau des tumeurs ont déjà été décrits chez des patients avec GEM THSD7A positive : carcinome de la

vésicule biliaire (104), carcinome de l'endomètre (20), adénocarcinome colique et mammaire (134). De plus il existait une diminution de la protéinurie et du taux d'Ac anti THSD7A après traitement du cancer (104,134) renforçant l'imputabilité du cancer à l'origine de ces GEM. THSD7A semble jouer un rôle dans la prolifération métastatique, l'invasion vasculaire et la néoangiogenèse tumorale (148).

Nos résultats confirment la forte association entre GEM THSD7A positive et cancers avec deux patients sur quatre (50%) atteints de cancer (adénocarcinome pulmonaire). Ainsi THSD7A ne peut pas être utilisé afin de distinguer GEM primitive et secondaire et n'a pas été intégré au critère combiné. Notre étude confirme aussi la faible prévalence des GEM THSD7A en Europe (probablement proche de 2.3% dans notre étude) (65) ; la détection de THSD7A doit faire rechercher un cancer (24,89).

Dans notre étude, les critères histologiques associés aux GEM primitives étaient : la (co)dominance IgG4 ($p < 0.001$) et la détection de PLA2R sur la biopsie rénale ($p < 0.001$). Les critères associés aux GEM secondaires étaient : l'hypercellularité endocapillaire ($p = 0.036$), la prolifération extra capillaire ($p = 0.003$), la prolifération mésangiale ($p = 0.048$), et la (co)dominance IgG1 ou IgG2 ($p < 0.001$ et $p = 0.007$ respectivement). Ces résultats sont en accord avec les résultats déjà décrits dans la littérature scientifique (69,93,95,127).

Nos résultats montrent que les critères clinico-biologiques pourraient aussi être utilisés afin d'orienter le diagnostic vers une GEM primitive ou secondaire. Ces différences au diagnostic ont été peu étudiées dans la littérature et nécessitent d'être validées dans d'autres études prospectives. Ainsi de nombreux critères permettaient de distinguer GEM primitive de secondaire. Les critères étaient associés aux GEM primitive : le sexe masculin ($p < 0.001$), un IMC plus élevé ($p < 0.001$), l'antécédent d'HTA ($p = 0.008$), une albuminémie plus basse ($p = 0.006$), une protéinurie plus importante ($p < 0.001$) avec la présence plus

fréquente de syndrome néphrotique ($p < 0.001$) et la présence d'Ac anti PLAR ($p < 0.001$). Les critères associés aux GEM secondaires incluait un antécédent de cancer ($p < 0.001$), un taux d'hémoglobine et de plaquettes plus bas ($p = 0.018$), une lymphopénie plus fréquente ($p < 0.001$), une hématurie plus importante ($p = 0.004$).

Ces résultats nous poussent à imaginer un score diagnostic où les critères histologiques seraient associés aux critères clinico-biologique initiaux afin d'obtenir une probabilité de GEM primitive versus secondaire qui pourrait s'avérer utile pour le clinicien.

Enfin, notre étude est une étude observationnelle et rétrospective ; elle revêt donc un niveau de preuve scientifique faible. De plus les analyses secondaires en sous-groupes ont été effectuées sur un nombre faible de patients. Ainsi nos résultats ne doivent être considérés que comme exploratoires (particulièrement ceux des analyses en sous-groupes) et doivent être mis en balance avec ceux de la littérature scientifique sur le sujet.

Une mise à jour optimisé de l'algorithme de Ronco et Cambier pourrait inclure en plus des critères sus cités, les nouveaux antigènes détectés dans les GEM PLA2R négatives telles que l'Exostosine 1-2 et NELL 1. NELL-1 pourrait être responsable de 16% des GEM PLA2R négative, ce qui en fait le deuxième antigène le plus fréquemment impliqué dans les GEM après PLA2R (67). Cependant, de manière intéressante, un cancer était détecté chez 4 patients sur 5 dans la cohorte de validation de l'étude (4 patients sur 34 au total, près de 12%) ce qui soulève une nouvelle fois la question de l'étiologie primitive ou secondaire de ces GEM.

A l'heure de l'analyse protéomique et avec la découverte pluri annuelle de nouveaux antigènes responsables de GEM (66,67) il est possible d'envisager un avenir relativement proche où la question de la distinction entre GEM primitive et secondaire serait entièrement résolue.

6 REFERENCES:

1. Glasscock RJ. The Pathogenesis of Idiopathic Membranous Nephropathy: A 50-Year Odyssey. *Am J Kidney Dis.* 2010 Jul;56(1):157–67.
2. Jones DB. Nephrotic Glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 1957 Apr;33(2):313–29.
3. Mellors RC, Ortega LG, Holman HR. ROLE OF GAMMA GLOBULINS IN PATHOGENESIS OF RENAL LESIONS IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS AND CHRONIC MEMBRANOUS GLOMERULONEPHRITIS, WITH AN OBSERVATION ON THE LUPUS ERYTHEMATOSUS CELL REACTION. *J Exp Med.* 1957 Aug 1;106(2):191–202.
4. Coons AH, Kaplan MH. LOCALIZATION OF ANTIGEN IN TISSUE CELLS. *J Exp Med.* 1950 Jan 1;91(1):1–13.
5. Heymann W, Hackel DB, Harwood S, Wilson SG, Hunter JL. Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* 1959 Apr;100(4):660–4.
6. Beck LHJ, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-Type Phospholipase A2 Receptor as Target Antigen in Idiopathic Membranous Nephropathy [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0810457>. 2009 [cited 2020 Feb 25]. Available from: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa0810457?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov
7. Haas M, Meehan SM, Karrison TG, Spargo BH. Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: a comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1997 Nov;30(5):621–31.
8. Braden GL, Mulhern JG, O'Shea MH, Nash SV, Ucci AA, Germain MJ. Changing incidence of glomerular diseases in adults. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2000 May;35(5):878–83.
9. Simon P, Ramee M-P, Boulahrouz R, Stanescu C, Charasse C, Ang KS, et al. Epidemiologic data of primary glomerular diseases in western France. *Kidney Int.* 2004 Sep;66(3):905–8.
10. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, Stewart JH, Bucciante G, Lowenfels AB, et al. Distribution of primary renal diseases leading to end-stage renal failure in the United States, Europe, and Australia/New Zealand: Results from an international comparative study. *Am J Kidney Dis.* 2000 Jan 1;35(1):157–65.
11. Membranous nephropathy: Epidemiology, pathogenesis, and etiology - UpToDate [Internet]. [cited 2020 Mar 25]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/membranous-nephropathy-epidemiology-pathogenesis-and-etiology?source=mostViewed_widget
12. Dabade TS, Grande JP, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation: a surveillance biopsy study. *Am J*

- Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg. 2008 Jun;8(6):1318–22.
13. Hladunewich MA, Troyanov S, Calafati J, Registry for the MTG, Cattran DC. The Natural History of the Non-Nephrotic Membranous Nephropathy Patient. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Sep 1;4(9):1417–22.
 14. Couser WG. Primary Membranous Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017 Jun 7;12(6):983–97.
 15. Surindran S, Ayalon R, Hasan N, Beck LH, Salant DJ, Barisoni L, et al. Coexistence of ANCA-associated glomerulonephritis and anti-phospholipase A2 receptor antibody-positive membranous nephropathy. *Clin Kidney J*. 2012 Apr;5(2):162–5.
 16. Schieppati A, Mosconi L, Perna A, Mecca G, Bertani T, Garattini S, et al. Prognosis of Untreated Patients with Idiopathic Membranous Nephropathy [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199307083290203>. Massachusetts Medical Society; 2010 [cited 2020 Mar 25]. Available from: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199307083290203?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov
 17. Ponticelli C, Zucchelli P, Passerini P, Cesana B, Locatelli F, Pasquali S, et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy. *Kidney Int*. 1995 Nov;48(5):1600–4.
 18. Jha V, Ganguli A, Saha TK, Kohli HS, Sud K, Gupta KL, et al. A Randomized, Controlled Trial of Steroids and Cyclophosphamide in Adults with Nephrotic Syndrome Caused by Idiopathic Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Jun;18(6):1899–904.
 19. Shiiki H, Saito T, Nishitani Y, Mitarai T, Yorioka N, Yoshimura A, et al. Prognosis and risk factors for idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome in Japan. *Kidney Int*. 2004 Apr;65(4):1400–7.
 20. Hoxha E, Beck LH, Wiech T, Tomas NM, Probst C, Mindorf S, et al. An Indirect Immunofluorescence Method Facilitates Detection of Thrombospondin Type 1 Domain-Containing 7A-Specific Antibodies in Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Feb 1;28(2):520–31.
 21. Atlas de pathologie rénale NOEL Laure-Hélène [Internet]. Librairie Lavoisier. [cited 2020 Apr 12]. Available from: <https://www.lavoisier.fr/livre/medecine/atlas-de-pathologie-renale/noel/descriptif-9782257000231>
 22. Churg J, Ehrenreich T. Membranous nephropathy. *Perspect Nephrol Hypertens*. 1973;1 Pt 1:443–8.
 23. Bariéty J, Druet P, Lagrue G. [Extra-membranous glomerulopathies (E.M.G.)]. *Presse Med*. 1969 Oct 11;77(42):1457–8.
 24. Membranous nephropathy: Clinical manifestations, pathology, and diagnosis - UpToDate [Internet]. [cited 2020 Apr 17]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/membranous->

nephropathy-clinical-manifestations-pathology-and-diagnosis?search=membranous%20nephropathy&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3

25. Ronco P, Debiec H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care. *The Lancet*. 2015 May;385(9981):1983–92.
26. Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. Experimental membranous nephropathy redux. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005 Oct;289(4):F660–71.
27. Salant DJ, Belok S, Madaio MP, Couser WG. A new role for complement in experimental membranous nephropathy in rats. *J Clin Invest*. 1980 Dec 1;66(6):1339–50.
28. Saran AM, Yuan H, Takeuchi E, McLaughlin M, Salant DJ. Complement mediates nephrin redistribution and actin dissociation in experimental membranous nephropathy¹. *Kidney Int*. 2003 Dec 1;64(6):2072–8.
29. Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2005 May;16(5):1195–204.
30. Cunningham PN, Quigg RJ. Contrasting roles of complement activation and its regulation in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2005 May;16(5):1214–22.
31. Floege J, Johnson RJ, Gordon K, Yoshimura A, Campbell C, Iruela-Arispe L, et al. Altered glomerular extracellular matrix synthesis in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int*. 1992 Sep;42(3):573–85.
32. Kim Y, Butkowski R, Burke B, Kleppel MM, Crosson J, Katz A, et al. Differential expression of basement membrane collagen in membranous nephropathy. *Am J Pathol*. 1991 Dec;139(6):1381–8.
33. Minto AW, Kalluri R, Togawa M, Bergijk EC, Killen PD, Salant DJ. Augmented expression of glomerular basement membrane specific type IV collagen isoforms (alpha3-alpha5) in experimental membranous nephropathy. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998 Jun;110(3):207–17.
34. Ronco P, Debiec H. Antigen Identification in Membranous Nephropathy Moves toward Targeted Monitoring and New Therapy: Figure 1. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Apr;21(4):564–9.
35. Ronco P, Debiec H. Pathogenesis of membranous nephropathy: recent advances and future challenges. *Nat Rev Nephrol*. 2012 Apr;8(4):203–13.
36. Couser WG, Steinmuller DR, Stilmant MM, Salant DJ, Lowenstein LM. Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney. *J Clin Invest*. 1978 Dec;62(6):1275–87.
37. Van Damme BJ, Fleuren GJ, Bakker WW, Vernier RL, Hoedemaeker PJ. 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 J Tech Methods Pathol*. 1978 Apr;38(4):502–10.
38. Cybulsky AV, Rennke HG, Feintzeig ID, Salant DJ. Complement-induced glomerular epithelial cell injury. Role of the membrane attack complex in rat membranous nephropathy. *J Clin*

Invest. 1986 Apr;77(4):1096–107.

39. 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 U S A*. 1982 Sep;79(18):5557–61.

40. Border WA, Ward H J, Kamil ES, Cohen AH. Induction of Membranous Nephropathy in Rabbits by Administration of an Exogenous Cationic Antigen. *J Clin Invest*. 1982 Feb;69(2):451–61.

41. Bass PS, Drake AF, Wang Y, Thomas JH, Davies DR. Cationization of bovine serum albumin alters its conformation as well as its charge. *Lab Investig J Tech Methods Pathol*. 1990 Feb;62(2):185–8.

42. Koyama A, Inage H, Kobayashi M, Narita M, Tojo S. Effect of chemical cationization of antigen on glomerular localization of immune complexes in active models of serum sickness nephritis in rabbits. *Immunology*. 1986 Aug;58(4):529–34.

43. Adler SG, Wang H, Ward HJ, Cohen AH, Border WA. Electrical Charge. ITS ROLE IN THE PATHOGENESIS AND PREVENTION OF EXPERIMENTAL MEMBRANOUS NEPHROPATHY IN THE RABBIT. *J Clin Invest*. 1983 Mar;71(3):487–99.

44. Debiec H, Lefeu F, Kemper MJ, Niaudet P, Deschênes G, Remuzzi G, et al. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin. *N Engl J Med*. 2011;364(22):2101–2110.

45. Debiec H, Guignonis V, Mougnot B, Decobert F, Haymann J-P, Bensman A, et al. Antenatal Membranous Glomerulonephritis Due to Anti-Neutral Endopeptidase Antibodies [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa012895>. 2009 [cited 2020 Feb 25]. Available from: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa012895?url_ver=Z39.88-](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa012895?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov)

[2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.ncbi.nlm.nih.gov)

46. Škoberne A, Behnert A, Teng B, Fritzier MJ, Schiffer L, Pajek J, et al. Serum with phospholipase A2 receptor autoantibodies interferes with podocyte adhesion to collagen. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(8):753–65.

47. Hofstra JM, Debiec H, Short CD, Pellé T, Kleta R, Mathieson PW, et al. Antiphospholipase A2 Receptor Antibody Titer and Subclass in Idiopathic Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Oct 1;23(10):1735–43.

48. Debiec H, Ronco P. PLA2R Autoantibodies and PLA2R Glomerular Deposits in Membranous Nephropathy. *N Engl J Med*. 2011 Feb 17;364(7):689–90.

49. Fresquet M, Jowitt TA, Gummadova J, Collins R, O’Cualain R, McKenzie EA, et al. Identification of a Major Epitope Recognized by PLA2R Autoantibodies in Primary Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2015 Feb;26(2):302–13.

50. Kao L, Lam V, Waldman M, Glasscock RJ, Zhu Q. Identification of the Immunodominant Epitope Region in Phospholipase A2 Receptor-Mediating Autoantibody Binding in Idiopathic

Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Feb 1;26(2):291–301.

51. Seitz-Polski B, Debiec H, Rousseau A, Dahan K, Zaghrini C, Payré C, et al. Phospholipase A2 Receptor 1 Epitope Spreading at Baseline Predicts Reduced Likelihood of Remission of Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2018 Feb;29(2):401–8.

52. Seitz-Polski B, Dolla G, Payré C, Girard CA, Polidori J, Zorzi K, et al. Epitope Spreading of Autoantibody Response to PLA2R Associates with Poor Prognosis in Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2016 May;27(5):1517–33.

53. Bally S, Debiec H, Ponard D, Dijoud F, Rendu J, Fauré J, et al. Phospholipase A2 Receptor–Related Membranous Nephropathy and Mannan-Binding Lectin Deficiency. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Dec 1;27(12):3539–44.

54. Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, Bockenhauer D, Kottgen A, Dragomirescu L, et al. Risk HLA-DQA1 and PLA₂ R1 Alleles in Idiopathic Membranous Nephropathy. *N Engl J Med*. 2011 Feb 17;364(7):616–26.

55. Hofstra JM, Beck LH, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibodies Correlate with Clinical Status in Idiopathic Membranous Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2011 Jun;6(6):1286–91.

56. Hoxha E, Thiele I, Zahner G, Panzer U, Harendza S, Stahl RAK. Phospholipase A2 Receptor Autoantibodies and Clinical Outcome in Patients with Primary Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2014 Jun 1;25(6):1357–66.

57. Seitz-Polski B, Payré C, Ambrosetti D, Albano L, Cassuto-Viguié E, Berguignat M, et al. Prediction of membranous nephropathy recurrence after transplantation by monitoring of anti-PLA2R1 (M-type phospholipase A2 receptor) autoantibodies: a case series of 15 patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 Dec;29(12):2334–42.

58. Beck LH. Membranous Nephropathy and Malignancy. *Semin Nephrol*. 2010 Nov;30(6):635–44.

59. Tomas NM, Beck LHJ, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A in Idiopathic Membranous Nephropathy [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1409354>. 2014 [cited 2020 Feb 26]. Available from: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1409354?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov

60. Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity. *Mod Pathol*. 2016 Apr;29(4):421–6.

61. Iwakura T, Ohashi N, Kato A, Baba S, Yasuda H. Prevalence of Enhanced Granular Expression of Thrombospondin Type-1 Domain-Containing 7A in the Glomeruli of Japanese Patients with Idiopathic Membranous Nephropathy. *PLoS ONE* [Internet]. 2015 Sep 22 [cited 2020 May 18];10(9). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4578926/>

62. The Most N-Terminal Region of THSD7A Is the Predominant Target for Autoimmunity in

THSD7A-Associated Membranous Nephropathy | American Society of Nephrology [Internet]. [cited 2020 May 21]. Available from: <https://jasn.asnjournals.org/content/29/5/1536.long>

63. Wang C-H, Chen I-H, Kuo M-W, Su P-T, Lai Z-Y, Wang C-H, et al. Zebrafish Thsd7a is a neural protein required for angiogenic patterning during development. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat*. 2011 Jun;240(6):1412–21.

64. Herwig J, Skuza S, Sachs W, Sachs M, Failla AV, Rune G, et al. Thrombospondin Type 1 Domain-Containing 7A Localizes to the Slit Diaphragm and Stabilizes Membrane Dynamics of Fully Differentiated Podocytes. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2019 May;30(5):824–39.

65. Ren S, Wu C, Zhang Y, Wang AY, Li G, Wang L, et al. An update on clinical significance of use of THSD7A in diagnosing idiopathic membranous nephropathy: a systematic review and meta-analysis of THSD7A in IMN. *Ren Fail*. 2018 Apr 6;40(1):306–13.

66. Sethi S, Madden BJ, Debiec H, Charlesworth MC, Gross L, Ravindran A, et al. Exostosin 1/Exostosin 2-Associated Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2019 May 6;ASN.2018080852.

67. Sethi S, Debiec H, Madden B, Charlesworth MC, Morelle J, Gross L, et al. Neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL-1) associated membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2020 Jan;97(1):163–74.

68. Radhakrishnan J, Cattran DC. The KDIGO practice guideline on glomerulonephritis: reading between the (guide)lines—application to the individual patient. *Kidney Int*. 2012 Oct 2;82(8):840–56.

69. Leeaphorn N, Kue-A-Pai P, Thamcharoen N, Ungprasert P, Stokes MB, Knight EL. Prevalence of Cancer in Membranous Nephropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Am J Nephrol*. 2014;40(1):29–35.

70. Burstein DM, Korbet SM, Schwartz MM. Membranous glomerulonephritis and malignancy. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 1993 Jul;22(1):5–10.

71. Eagen JW, Lewis EJ. Glomerulopathies of neoplasia. *Kidney Int*. 1977 May;11(5):297–306.

72. Lefaucheur C, Stengel B, Nochy D, Martel P, Hill GS, Jacquot C, et al. Membranous nephropathy and cancer: Epidemiologic evidence and determinants of high-risk cancer association. *Kidney Int*. 2006 Oct;70(8):1510–7.

73. Murtas C, Ghiggeri GM. Membranous glomerulonephritis: histological and serological features to differentiate cancer-related and non-related forms. *J Nephrol*. 2016 Aug 1;29(4):469–78.

74. Ronco PM. Paraneoplastic glomerulopathies: New insights into an old entity. *Kidney Int*. 1999 Jul;56(1):355–77.

75. Couser WG, Wagonfeld JB, Spargo BH, Lewis EJ. Glomerular deposition of tumor antigen in membranous nephropathy associated with colonic carcinoma. *Am J Med*. 1974 Dec;57(6):962–70.

76. Togawa A, Yamamoto T, Suzuki H, Watanabe K, Matsui K, Nagase M, et al. Membranous Glomerulonephritis Associated with Renal Cell Carcinoma: Failure to Detect a Nephritogenic Tumor Antigen. *Nephron*. 2002;90(2):219–21.
77. Dähnrich C, Komorowski L, Probst C, Seitz-Polski B, Esnault V, Wetzels JF, et al. Development of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against human M-type phospholipase A2 receptor in primary membranous nephropathy. *Clin Chim Acta*. 2013 Jun 5;421:213–8.
78. Francis JM, Beck LH, Salant DJ. Membranous Nephropathy: A Journey From Bench to Bedside. *Am J Kidney Dis*. 2016 Jul;68(1):138–47.
79. Timmermans SAMEG, Damoiseaux JGMC, Heerings-Rewinkel PTJ, Ayalon R, Beck LH, Schlumberger W, et al. Evaluation of Anti-PLA2R1 as Measured by a Novel ELISA in Patients With Idiopathic Membranous Nephropathy. *Am J Clin Pathol*. 2014 Jul 1;142(1):29–34.
80. Oh YJ, Yang SH, Kim DK, Kang S-W, Kim YS. Autoantibodies against Phospholipase A2 Receptor in Korean Patients with Membranous Nephropathy. *PLoS ONE* [Internet]. 2013 Apr 26 [cited 2020 Apr 4];8(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3637390/>
81. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A 2 -receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2011 Aug 1;26(8):2526–32.
82. Hoxha E, Kneißler U, Stege G, Zahner G, Thiele I, Panzer U, et al. Enhanced expression of the M-type phospholipase A2 receptor in glomeruli correlates with serum receptor antibodies in primary membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2012 Oct;82(7):797–804.
83. Qin W, Beck LH, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, et al. Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody in Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Jun;22(6):1137–43.
84. Du Y, Li J, He F, Lv Y, Liu W, Wu P, et al. The Diagnosis Accuracy of PLA2R-AB in the Diagnosis of Idiopathic Membranous Nephropathy: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Aug 19 [cited 2020 Apr 9];9(8). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4138154/>
85. Svobodova B, Honsova E, Ronco P, Tesar V, Debiec H. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2013 Jul;28(7):1839–44.
86. Radice A, Pieruzzi F, Trezzi B, Ghiggeri G, Napodano P, D'Amico M, et al. Diagnostic specificity of autoantibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) in differentiating idiopathic membranous nephropathy (IMN) from secondary forms and other glomerular diseases. *J Nephrol*. 2018 Apr;31(2):271–8.
87. Beck LH, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RGB, Malik FA, Erickson SB, et al. Rituximab-Induced Depletion of Anti-PLA2R Autoantibodies Predicts Response in Membranous Nephropathy.

J Am Soc Nephrol. 2011 Aug 1;22(8):1543–50.

88. Bech AP, Hofstra JM, Brenchley PE, Wetzels JFM. Association of Anti-PLA2R Antibodies with Outcomes after Immunosuppressive Therapy in Idiopathic Membranous Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Aug 7;9(8):1386–92.

89. De Vriese AS, Glasscock RJ, Nath KA, Sethi S, Fervenza FC. A Proposal for a Serology-Based Approach to Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Feb;28(2):421–30.

90. VanBeek C, Haas M. Anti-PLA2R-associated membranous nephropathy: a review with emphasis on diagnostic testing methods. *Clin Nephrol*. 2015 Jul;84(1):1–9.

91. Logt A-E van de, Hofstra JM, Wetzels JFM. Serum anti-PLA2R antibodies can be initially absent in idiopathic membranous nephropathy: seroconversion after prolonged follow-up. *Kidney Int*. 2015 Jun 1;87(6):1263–4.

92. Huang CC, Lehman A, Albawardi A, Satoskar A, Brodsky S, Nadasdy G, et al. IgG subclass staining in renal biopsies with membranous glomerulonephritis indicates subclass switch during disease progression. *Mod Pathol*. 2013 Jun;26(6):799–805.

93. Kuroki A, Shibata T, Honda H, Totsuka D, Kobayashi K, Sugisaki T. Glomerular and serum IgG subclasses in diffuse proliferative lupus nephritis, membranous lupus nephritis, and idiopathic membranous nephropathy. 2002;41(1):7.

94. Imai H, Hamai K, Komatsuda A, Ohtani H, Miura AB. IgG subclasses in patients with membranoproliferative glomerulonephritis, membranous nephropathy, and lupus nephritis. *Kidney Int*. 1997 Jan;51(1):270–6.

95. Ohtani H, Wakui H, Komatsuda A, Okuyama S, Masai R, Maki N, et al. Distribution of glomerular IgG subclass deposits in malignancy-associated membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2004 Mar 1;19(3):574–9.

96. von Haxthausen F, Reinhard L, Pinnschmidt HO, Rink M, Soave A, Hoxha E, et al. Antigen-Specific IgG Subclasses in Primary and Malignancy-Associated Membranous Nephropathy. *Front Immunol* [Internet]. 2018 Dec 20 [cited 2019 May 21];9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6306563/>

97. Hemminger J, Nadasdy G, Satoskar A, Brodsky SV, Nadasdy T. IgG Subclass Staining in Routine Renal Biopsy Material: *Am J Surg Pathol*. 2016 May;40(5):617–26.

98. Alawieh R, Brodsky SV, Satoskar AA, Nadasdy T, Parikh SV, Rovin B, et al. Membranous Nephropathy With Crescents. *Kidney Int Rep*. 2020 Apr;5(4):537–41.

99. Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int*. 2018;93(4):789–96.

100. Jennette JC, Iskandar SS, Dalldorf FG, Jennette JC. Pathologic differentiation between lupus and nonlupus membranous glomerulopathy. *Kidney Int*. 1983 Sep;24(3):377–85.

101. Katz A, Fish AJ, Santamaria P, Nevins TE, Kim Y, Butkowski RJ. Role of antibodies to tubulointerstitial nephritis antigen in human anti-tubular basement membrane nephritis associated with membranous nephropathy. *Am J Med.* 1992 Dec 1;93(6):691–8.
102. Davenport A, Maciver AG, Hall CL, MacKenzie JC. Do mesangial immune complex deposits affect the renal prognosis in membranous glomerulonephritis? *Clin Nephrol.* 1994 May;41(5):271–6.
103. Nikolopoulou A, Huang-Doran I, McAdoo SP, Griffith ME, Cook HT, Pusey CD. Membranous Glomerulonephritis With Crescents. *Kidney Int Rep.* 2019 Aug 13;4(11):1577–84.
104. Hoxha E, Wiech T, Stahl PR, Zahner G, Tomas NM, Meyer-Schwesinger C, et al. A Mechanism for Cancer-Associated Membranous Nephropathy. *N Engl J Med.* 2016 May 19;374(20):1995–6.
105. Comparison of idiopathic and systemic lupus erythematosus-associated membranous glomerulonephropathy in children. The Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1986 Feb;7(2):115–24.
106. Floege J, Barbour SJ, Cattran DC, Hogan JJ, Nachman PH, Tang SCW, et al. Management and treatment of glomerular diseases (part 1): conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2019 Feb;95(2):268–80.
107. Lin L, Wang WM, Pan XX, Xu J, Gao CN, Zhang W, et al. Biomarkers to detect membranous nephropathy in Chinese patients. *Oncotarget [Internet].* 2016 Oct 18 [cited 2020 May 10];7(42). Available from: <http://www.oncotarget.com/fulltext/12014>
108. Timmermans SAMEG, Ayalon R, van Paassen P, Beck LH, van Rie H, Wirtz JJJM, et al. Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibodies and Malignancy in Membranous Nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2013 Dec;62(6):1223–5.
109. Xie Q, Li Y, Xue J, Xiong Z, Wang L, Sun Z, et al. Renal Phospholipase A2 Receptor in Hepatitis B Virus-Associated Membranous Nephropathy. *Am J Nephrol.* 2015;41(4–5):345–53.
110. Knehtl M, Debiec H, Kamgang P, Callard P, Cadranel J, Ronco P, et al. A Case of Phospholipase A2 Receptor-Positive Membranous Nephropathy Preceding Sarcoid-Associated Granulomatous Tubulointerstitial Nephritis. *Am J Kidney Dis.* 2011 Jan 1;57(1):140–3.
111. Stehlé T, Audard V, Ronco P, Debiec H. Phospholipase A2 receptor and sarcoidosis-associated membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Jun;30(6):1047–50.
112. Dauvergne M, Moktefi A, Rabant M, Vigneau C, Kofman T, Burtay S, et al. Membranous Nephropathy Associated With Immunological Disorder-Related Liver Disease. *Medicine (Baltimore) [Internet].* 2015 Jul 31 [cited 2020 Apr 4];94(30). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4554106/>
113. Behnert A, Schiffer M, Müller-Deile J, Beck LH, Mahler M, Fritzier MJ. Antiphospholipase A2 Receptor Autoantibodies: A Comparison of Three Different Immunoassays for the Diagnosis of Idiopathic Membranous Nephropathy. *J Immunol Res [Internet].* 2014 [cited 2020 Apr 12];2014.

Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4000632/>

114. Cambier J-F, Ronco P. Onco-Nephrology: Glomerular Diseases with Cancer. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012 Oct;7(10):1701–12.
115. Glassock R. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. *Semin Nephrol*. 2003 Jul;23(4):324–32.
116. Cahen R, Francois B, Trolliet P, Gilly J, Parchoux B. Aetiology of Membranous Glomerulonephritis: A Prospective Study of 82 Adult Patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1989 Jan 1;4(3):172–80.
117. Larsen CP, Messias NC, Silva FG, Messias E, Walker PD. Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies. *Mod Pathol*. 2013 May;26(5):709–15.
118. Segarra-Medrano A, Jatem-Escalante E, Quiles-Pérez MT, Salcedo MT, Arbós-Via MA, Ostos H, et al. Prevalence, diagnostic value and clinical characteristics associated with the presence of circulating levels and renal deposits of antibodies against the M-type phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy. *Nefrol Publicacion Of Soc Espanola Nefrol*. 2014 May 21;34(3):353–9.
119. Hoxha E, Harendza S, Pinnschmidt HO, Tomas NM, Helmchen U, Panzer U, et al. Spontaneous remission of proteinuria is a frequent event in phospholipase A2 receptor antibody-negative patients with membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2015 Nov 1;30(11):1862–9.
120. Akiyama S, Akiyama M, Imai E, Ozaki T, Matsuo S, Maruyama S. Prevalence of anti-phospholipase A2 receptor antibodies in Japanese patients with membranous nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2015 Aug;19(4):653–60.
121. Yeo M-K, Kim YH, Choi DE, Choi S-Y, Kim K-H, Suh K-S. The Usefulness of Phospholipase A2 Receptor and IgG4 Detection in Differentiation Primary Membranous Nephropathy From Secondary Membranous Nephropathy in Renal Biopsy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM*. 2018;26(8):591–8.
122. Haas M. IgG Subclass Deposits in Glomeruli of Lupus and Nonlupus Membranous Nephropathies. *Am J Kidney Dis*. 1994 Mar;23(3):358–64.
123. Qu Z, Liu G, Li J, Wu L -h., Tan Y, Zheng X, et al. Absence of glomerular IgG4 deposition in patients with membranous nephropathy may indicate malignancy. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 May 1;27(5):1931–7.
124. Ryan MS, Satoskar AA, Nadasdy GM, Brodsky SV, Hemminger JA, Nadasdy T. Phospholipase A2 receptor staining is absent in many kidney biopsies with early-stage membranous glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2016 Jun 1;89(6):1402–3.
125. Rodriguez EF, Nasr SH, Larsen CP, Sethi S, Fidler ME, Cornell LD. Membranous nephropathy with crescents: a series of 19 cases. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2014

Jul;64(1):66–73.

126. Hoefield RA, Kalra PA, Baker P, Lane B, New JP, O'Donoghue DJ, et al. Factors Associated With Kidney Disease Progression and Mortality in a Referred CKD Population. *Am J Kidney Dis*. 2010 Dec;56(6):1072–81.

127. Dong H, Wang Y, Cheng X, Wang G, Sun L, Cheng H, et al. Retrospective Study of Phospholipase A2 Receptor and IgG Subclasses in Glomerular Deposits in Chinese Patients with Membranous Nephropathy. Jha V, editor. *PLOS ONE*. 2016 May 25;11(5):e0156263.

128. Wang J, Cui Z, Lu J, Probst C, Zhang Y, Wang X, et al. Circulating Antibodies against Thrombospondin Type-I Domain-Containing 7A in Chinese Patients with Idiopathic Membranous Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017 Oct 6;12(10):1642–51.

129. Tian C, Li L, Liu T, Qu X, Qiu Y. Circulating antibodies against M-type phospholipase A2 receptor and thrombospondin type-1 domain-containing 7A in Chinese patients with membranous nephropathy. *Int Urol Nephrol*. 2019 Aug;51(8):1371–7.

130. Roufousse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, Haas M, Henriksen KJ, Horsfield C, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology: Transplantation. 2018 Nov;102(11):1795–814.

131. Weening JJ, D'agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int*. 2004 Feb 1;65(2):521–30.

132. Bobart SA, De Vriese AS, Pawar AS, Zand L, Sethi S, Giesen C, et al. Noninvasive diagnosis of primary membranous nephropathy using phospholipase A2 receptor antibodies. *Kidney Int*. 2019 Feb;95(2):429–38.

133. Zhang C, Zhang M, Chen D, Ren Q, Xu W, Zeng C, et al. Features of phospholipase A2 receptor and thrombospondin type-1 domain-containing 7A in malignancy-associated membranous nephropathy. *J Clin Pathol*. 2019 Oct 1;72(10):705–11.

134. Xian L, Dong D, Luo J, Zhuo L, Li K, Zhang P, et al. Expression of THSD7A in neoplasm tissues and its relationship with proteinuria. *BMC Nephrol* [Internet]. 2019 Aug 23 [cited 2020 May 17];20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6708223/>

135. Lönnbro-Widgren J, Ebefors K, Mölne J, Nyström J, Haraldsson B. Glomerular IgG subclasses in idiopathic and malignancy-associated membranous nephropathy. *Clin Kidney J*. 2015 Aug;8(4):433–9.

136. Gadonski G, Poli-de-Figueiredo CE, Fervenza FC, Singh AK, Tettamanzy FM, Antonello ICF, et al. Rapidly Deteriorating Kidney Function in a Young Man Previously Diagnosed with Membranous Nephropathy. *Nephron Clin Pract*. 2010 Jun;115(2):c100–6.

137. Wang J, Zhu P, Cui Z, Qu Z, Zhang Y, Wang F, et al. Clinical Features and Outcomes in Patients With Membranous Nephropathy and Crescent Formation. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2015 Dec 18 [cited 2020 Apr 14];94(50). Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5058937/>

138. Hofstra JM, Wetzels JFM. Phospholipase A2 Receptor Antibodies in Membranous Nephropathy: Unresolved Issues. *J Am Soc Nephrol*. 2014 Jun 1;25(6):1137–9.
139. Larsen CP, Walker PD. Phospholipase A2 Receptor (PLA2R) Staining Is Useful in the Determination of De Novo Versus Recurrent Membranous Glomerulopathy. *Transplantation*. 2013 May;95(10):1259–1262.
140. Leeaphorn N, Kue-A-Pai P, Thamcharoen N, Ungprasert P, Stokes MB, Knight EL. Prevalence of Cancer in Membranous Nephropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Am J Nephrol*. 2014;40(1):29–35.
141. Birkeland SA, Storm HH. Glomerulonephritis and malignancy: A population-based analysis. *Kidney Int*. 2003 Feb;63(2):716–21.
142. Bjørneklett R, Vikse BE, Svarstad E, Aasarød K, Bostad L, Langmark F, et al. Long-Term Risk of Cancer in Membranous Nephropathy Patients. *Am J Kidney Dis*. 2007 Sep;50(3):396–403.
143. Larsen CP, Messias NC, Silva FG, Messias E, Walker PD. Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies. *Mod Pathol*. 2013 May;26(5):709–15.
144. Augert A, Payré C, de Launoit Y, Gil J, Lambeau G, Bernard D. The M-type receptor PLA2R regulates senescence through the p53 pathway. *EMBO Rep*. 2009 Mar;10(3):271–7.
145. Kim HJ, Kim KS, Kim SH, Baek S-H, Kim HY, Lee C, et al. Induction of Cellular Senescence by Secretory Phospholipase A2 in Human Dermal Fibroblasts through an ROS-Mediated p53 Pathway. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009 Mar;64A(3):351–62.
146. Vindrieux D, Augert A, Girard CA, Gitenay D, Lallet-Daher H, Wiel C, et al. PLA2R1 Mediates Tumor Suppression by Activating JAK2. *Cancer Res*. 2013 Oct 15;73(20):6334–45.
147. Augert A, Vindrieux D, Girard CA, Le Calvé B, Gras B, Ferrand M, et al. PLA2R1 kills cancer cells by inducing mitochondrial stress. *Free Radic Biol Med*. 2013 Dec 1;65:969–77.
148. Stahl PR, Hoxha E, Wiech T, Schröder C, Simon R, Stahl RAK. THSD7A expression in human cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2017;56(4):314–27.

AUTEUR : Nom : ROGER

Prénom : CAMILLE

Date de soutenance : 16/06/2020

Titre de la thèse : Intérêt d'un critère sérologique et histologique combiné dans le diagnostic de glomérulonéphrite extra-membraneuse primitive

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : Médecine

DES de spécialité : Néphrologie

Mots-clés : Glomérulonéphrite extra membraneuse, critères histologiques, diagnostic

Résumé : Contexte : L'origine de la glomérulonéphrite extra-membraneuse (GEM) est primitive dans 80% des cas mais peut aussi être secondaire (cancers, lupus ou autres maladies immunologiques, infections). Pouvoir distinguer GEM primitive et secondaire est essentiel car les stratégies thérapeutiques sont différentes. Certains arguments histologiques permettent d'orienter le clinicien vers une origine primitive ou secondaire. L'objectif de notre étude était de tester l'efficacité d'un critère sérologique et histologique combiné dans le diagnostic de GEM primitive.

Méthodes : Etude multicentrique rétrospective ayant inclus 11 centres de néphrologie. Tous les patients avec le diagnostic histologique de GEM entre 2010 et 2016 ont été inclus. Le diagnostic de GEM primitive était retenu après exclusion des étiologies secondaires (examen clinique, examens biologiques et radiologiques). Le critère sérologique et histologique combiné testé incluait trois items : (i) présence de PLA2R au niveau de la biopsie ou anticorps (Ac) anti- PLA2r sériques, (ii) dominance ou codominance de la sous-classe IgG4, (iii) absence d'hypercellularité endocapillaire. Nous avons calculé les indices informationnels de ce critère dans le diagnostic de GEM primitive.

Résultats : Les caractéristiques histologiques associées aux GEM primitives étaient la présence de PLA2R sur la biopsie ($p < 0.001$), la (co)dominance IgG4 ($p < 0.001$), alors que la présence d'hypercellularité endocapillaire ($p = 0.036$), de prolifération extracapillaire ($p = 0.003$) et mésangiale ($p = 0.048$) et la (co)dominance IgG1 et IgG2 ($p < 0.001$ et $p = 0.007$) étaient associées aux GEM secondaires. La sensibilité et la spécificité du critère étaient de : 0.57 [IC 95% : 0.48-0.66] et 0.95 [0.88-1.00] contre 0.81 [0.74-0.88] et 0.85 [0.75-0.95] pour le statut PLA2R (biopsie ou Ac sériques).

Conclusion : Nos résultats montrent une spécificité et valeur prédictive positive importantes du critère combiné testé, diminuant le risque de faux positifs par rapport au statut PLA2R seul. Il pourrait être utilisé afin d'exclure les GEM secondaires, permettant l'affranchissement d'examens secondaires coûteux, chronophages et angoissants pour le patient.

Composition du Jury :

Président : Professeur Marc HAZZAN

Assesseurs : Professeur François GLOWACKI, Docteur Viviane GNEMMI, Docteur Karine DAHAN

Directeur de thèse : Docteur Claire CARTERY