



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

CO096

## BAT3 : témoin de l'implication ces cellules NK et biomarqueur potentiel su Syndrome des antisyntétases

B. Hervier<sup>1,\*</sup>, E. Ollame-Omvane<sup>2</sup>, C. Gayed<sup>2</sup>, J. Russick<sup>3</sup>, N. Tarantino<sup>2</sup>, I. Cremer<sup>3</sup>, O. Benveniste<sup>4</sup>, V. Vieillard<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Médecine interne, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris

<sup>2</sup> Cimi paris umrs 1135, Inserm, Paris

<sup>3</sup> Umr s 1138, INSERM, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris

<sup>4</sup> Département de Médecine interne et immunologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

<sup>5</sup> Upmc, CIMI-Paris Inserm U-1135, Paris

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [baptiste.hervier@aphp.fr](mailto:baptiste.hervier@aphp.fr) (B. Hervier)

**Introduction** Le syndrome des antisyntétases (SAS) est une maladie auto-immune caractérisée par une myosite, une pneumopathie infiltrante diffuse et la présence d'un anticorps anti-ARNt-synthétase dont le chef de file est l'anti-Jo-1. Bien que mal connue, l'origine du SAS serait secondaire à l'exposition à des aérocontaminants et/ou des infections respiratoires. Ces événements induiraient le relargage de l'antigène Jo-1 dans le milieu extracellulaire, première étape de la rupture de tolérance au soi. Nous avons montré qu'il existait une infiltration massive de cellules NK-Granzyme B+ dans les poumons de patients atteints de SAS, associés à une diminution de l'expression d'un récepteur de cytotoxicité spécifique, NKp30, sur les cellules NK sanguines. La diminution de NKp30 a déjà été rapportée en contexte néoplasique, et corrèle avec l'expression anormale de ses ligands, dont BAT3, une molécule de stress cellulaire. Cette étude s'intéresse à l'impact possible des cellules NK et de BAT3 au cours du SAS.

**Patients et méthodes** Depuis 2013, 53 patients avec SAS Jo-1 positif, traités ou non traités ont été inclus : 15 hommes (28 %), d'âge médian 48 ans (18–77). Vingt-sept patients actifs et 26 inactifs ont été comparés à 17 donneurs sains et 20 patients avec myosite non lié au SAS. La quantification de NKp30 sur les cellules NK sanguines était effectuée par RT-qPCR. Les dosages de BAT3 soluble (sBAT3) étaient quantifiés dans le serum et le lavage broncho-alvéolaire (LBA,  $n=7$ ) par ELISA. Un marquage anti-BAT3 était effectué sur les cellules figurées du sang et sur biopsie pulmonaire ( $n=4$ ). Dans un modèle in vitro, les cellules NK activées de patients et de contrôles étaient cultivées 6 h avec une lignée cible pulmonaire (A549), qui exprime BAT3 et Jo-1. L'effet des anti-NKp30, du BAT3 soluble recombinant et des inhibiteurs de Granzyme B étaient testés. Jo-1 était dosé dans les surnageants de culture par ELISA.

**Résultats** Au cours du SAS, la diminution de l'expression de NKp30 par les cellules NK circulantes est d'origine post-transcriptionnelle, puisque les ARN messagers des trois isoformes connus A, B et C sont exprimés de façon équivalente chez les patients ( $n=39$ ) et les contrôles ( $n=9$ ). Ni les monocytes, ni les lymphocytes T et B sanguins de patients avec SAS n'expriment BAT3 ( $n=8$ ). Sur coupes histologiques, BAT3 est exprimé par les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales bronchiolaires. sBAT3 est retrouvé dans 6/7 LBA. Les titres de sBAT3 sériques sont significativement augmentés chez les patients atteints de SAS comparativement aux contrôles ou patients atteints de myosite non-SAS (250 vs. 134 et 179 pg/mL,  $p=0,0002$ , respectivement). De plus, sBAT3 corrèle avec l'activité de la maladie (340 vs. 160 pg/mL,  $p<0,0001$ ). Chez 6/7 patients présentant une augmentation de sBAT3 sérique, le taux diminue sous traitement (605 à 266 pg/mL,  $p=0,03$ ). In vitro, les co-cultures de cellules NK avec les cibles A549 aboutit à la dégranulation des cellules NK et le relargage de Jo-1 dans le surnageant, chez les patients et les contrôles. À la différence des anticorps anti-NKp30 ou le sBAT3 recombinant, les inhibiteurs de Granzyme B diminuent le relargage de Jo-1 de 22 % ( $n=3$ ).

**Conclusion** La cytotoxicité des cellules NK contre des cellules pulmonaires exprimant BAT3 pourrait-être impliqué dans l'immunopathologie du SAS, en étant à l'origine du relargage de Jo-

1 de façon dépendante de Granzyme B. En parallèle, sBAT3 pourrait être considéré comme un biomarqueur chez les patients atteints de SAS.

**Déclaration de liens d'intérêts** Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

<https://doi.org/10.1016/j.revmed.2021.03.257>

CO097

## Maturation et persistance de la réponse lymphocytaire B mémoire anti-SARS-CoV-2

A. Sokal<sup>1,\*</sup>, P. Chappert<sup>1</sup>, G. Barba-Spaeth<sup>2</sup>, A. Roeser<sup>1</sup>, S. Fourati<sup>3</sup>, I. Azzaoui<sup>4</sup>, A. Vandenberghe<sup>1</sup>, I. Fernandez<sup>2</sup>, E. Crickx<sup>5</sup>, A. Beldi-Ferchiou<sup>6</sup>, S. Hue<sup>6</sup>, M. Michel<sup>5</sup>, B. Godeau<sup>5</sup>, F. Noizat-Pirenne<sup>4</sup>, M. Ménager<sup>7</sup>, S. Fillatreau<sup>1</sup>, F. Rey<sup>2</sup>, J.C. Weill<sup>1</sup>, C.A. Reynaud<sup>1</sup>, M. Mahevas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Inserm u1151/cnrs ums 8253, Institut Necker Enfants Malades (INEM), Paris

<sup>2</sup> Unité de virologie structurale, Institut Pasteur, Paris

<sup>3</sup> Département de virologie, bactériologie, hygiène et mycologie-parasitologie, Centre Hospitalier Universitaire Henri-Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris

<sup>4</sup> Imrb - u955 - équipe n°2 "transfusion et maladies du globe rouge", EFS île-de-france, Créteil

<sup>5</sup> Médecine interne, Centre Hospitalier Universitaire Henri-Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris

<sup>6</sup> Département immunologie-hématologie, Centre Hospitalier Universitaire Henri-Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris

<sup>7</sup> Institut imagine, inserm umr1163, Réponses inflammatoires et réseaux transcriptomiques dans les maladies, Paris

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [aurelien@sokal.net](mailto:aurelien@sokal.net) (A. Sokal)

**Introduction** Un nouveau coronavirus émergent, le SARS-CoV-2, est responsable d'une pandémie ayant entraîné plus de 2 millions de morts à ce jour. Comprendre les mécanismes qui sous-tendent l'établissement d'une mémoire immunitaire contre ce virus est donc un enjeu crucial en terme de santé publique et de vaccination. Dans ce contexte, la caractérisation de la longévité et de la fonctionnalité de la réponse lymphocytaire B mémoire anti-SARS-CoV-2 est une question majeure, notamment pour évaluer la protection conférée par l'infection en cas de nouvelle exposition virale. Notre objectif était donc de caractériser la réponse lymphocytaire B mémoire après infection par le SARS-CoV-2.

**Patients et méthodes** Nous avons suivi longitudinalement 2 cohortes de patients ayant eu une infection par le SARS-CoV-2 de gravité modérée (M-CoV, ambulatoires,  $n=18$ ) ou sévère (S-CoV, hospitalisés avec nécessité d'oxygénothérapie,  $n=21$ ), prélevés dans les semaines suivant le début des symptômes puis à 3 mois et 6 mois après l'infection. Notre stratégie expérimentale reposait sur 3 approches complémentaires :

- l'étude couplée et en cellule unique du transcriptome, de la séquence des chaînes lourdes et légères des gènes d'immunoglobuline, de l'expression phénotypique de 20 marqueurs de surfaces et de la spécificité antigénique pour la protéine spike des lymphocytes B (LB) CD19+IgD- de 4 patients S-CoV à M0 et M6 ;

- la culture en cellule unique des LB spécifiques de la spike de ces mêmes patients dans un système permettant leur prolifération et leur différenciation en cellules sécrétrices d'anticorps afin d'obtenir la séquence de la chaîne lourde du gène d'immunoglobuline et la production de l'anticorps encodés par les LB pour tester leur réactivité en ELISA contre le domaine RBD de la protéine spike, contre la spike des coronavirus saisonniers HCoV-HKU1 et HCoV-OC43 ou bien de tester leur potentiel de neutralisation du SARS-CoV-2 in vitro ;

– la validation de ces résultats sur l'ensemble de la cohorte en cytométrie de flux avec un panel permettant d'identifier les LB mémoires spécifiques de la spike.

**Résultats** Nous avons pu mettre en évidence que la première vague précoce de plasmocytes (réaction extra-folliculaire) provenait essentiellement de la différenciation de lymphocytes B activés exprimant fortement le CD71. Ces plasmocytes étaient issus de LB naïfs mais aussi de LB mémoires préexistant et présentant une cross-réactivité avec la protéine spike des coronavirus saisonniers HCoV-OC43 et HCoV-HKU1. De façon synchrone, une réponse durable de type centre germinatif se mettait en place, permettant le développement d'un pool de LB mémoires spécifiques de la spike acquérant progressivement un phénotype de LB mémoire classique (CD19 + CD27 + IgD-CD71-). Ces lymphocytes B mémoires spécifiques persistaient jusqu'à 6 mois après l'infection, augmentant même chez les S-CoV et représentaient 1,95 % des LB mémoires circulants et 0,94 % chez les M-CoV ( $p = 0,004$ ). Peu de ces cellules étaient en relation clonale avec les cellules ayant donné naissance à la vague plasmocytaire initiale. Les LB mémoires spécifiques de la spike présentaient une accumulation de mutations somatiques dans les gènes d'immunoglobuline avec le temps, caractéristique des cellules issues des centres germinatifs. Ces cellules comprenaient une part croissante de cellules reconnaissant le RBD entre M3 et M6, au détriment des cellules cross-réactives avec les coronavirus saisonniers : à 6 mois, 26,3 % des LB mémoires spécifiques de la spike reconnaissaient la région RBD de cette dernière, contre 11,1 % à M3. Un test de neutralisation in vitro a permis de confirmer que les anticorps encodés par ces LB mémoires spécifiques du RBD avaient une activité de neutralisation contre le SARS-CoV-2, dans 85 % des cas pour les S-CoV et 50 % pour les M-CoV.

**Conclusion** Notre travail met en évidence qu'une mémoire lymphocytaire B s'établit après infection par le SARS-CoV-2, et mature dans le centre germinatif pour acquérir des mutations somatiques. L'établissement de cette mémoire immunitaire capable de se réactiver et d'évoluer en cas de réinfection est une nouvelle encourageante dans la perspective vaccinale et l'apparition de nouveaux variants de la protéine RBD du SARS-CoV2.

**Déclaration de liens d'intérêts** M. Mahévas a reçu des fonds de recherche GlaxoSmithKline et des financements personnels de LFB et Amgen, sans lien avec le travail soumis.

J.-C. Weill a une activité de consultant rémunérée auprès de l'Institut Mérieux, sans lien avec le travail soumis.

<https://doi.org/10.1016/j.revmed.2021.03.258>

## Situations fréquentes en médecine interne

CO062

### Maladie de Still et PseudoStill associés aux SMD et LMMC : Étude nationale Française



M. Delplanque<sup>1,\*</sup>, A. Aouba<sup>2</sup>, P. Hirsch<sup>3</sup>, P. Fenaux<sup>4</sup>, J. Graveleau<sup>5</sup>, F. Malard<sup>6</sup>, D. Roos-Weil<sup>7</sup>, N. Belfeki<sup>8</sup>, M. Groh<sup>9</sup>, S. Guillet<sup>10</sup>, J. Razanamahery<sup>11</sup>, M. Mahevas<sup>12</sup>, G. Maigné<sup>13</sup>, S. Miranda<sup>14</sup>, T. Quéméneur<sup>15</sup>, L. Sailler<sup>16</sup>, M. Sebert<sup>17</sup>, L. Terriou<sup>18</sup>, S. Georgin-Lavialle<sup>19</sup>, A. Mekinian<sup>20</sup>, MINHEMNON CEREMAIA,

<sup>1</sup> Médecine interne, Hôpital Tenon AP-HP, Paris

<sup>2</sup> Médecine interne, CHU, Caen

<sup>3</sup> Hématologie biologique, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris

<sup>4</sup> Hématologie (st louis), Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris

<sup>5</sup> Médecine interne, C.H.U. Hôtel Dieu, Nantes

<sup>6</sup> Hématologie, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris

<sup>7</sup> Hématologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

<sup>8</sup> Service de médecine interne, C.H. de Melun, Melun

<sup>9</sup> Médecine interne, CHU Cochin, 75679 Paris cedex 14, Paris

<sup>10</sup> Médecine interne, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil

<sup>11</sup> Médecine interne, CHRU Jean Minjoz, Besançon

<sup>12</sup> Médecine Interne, Hôpital Henri Mondor, Créteil

<sup>13</sup> Service de médecine interne, CHU de Caen, Caen

<sup>14</sup> Médecine interne, 1, rue de Germont, Rouen

<sup>15</sup> Néphrologie-Médecine Interne, Centre Hospitalier De

Valenciennes, Valenciennes

<sup>16</sup> Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse

<sup>17</sup> Hématologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris

<sup>18</sup> Hématologie, Hôpital Claude Huriez, Lille

<sup>19</sup> Médecine Interne, Hôpital Tenon, Paris

<sup>20</sup> Médecine interne, hôpital saint-antoine, 184, rue du Faubourg Saint-Antoine, Paris

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [marion.delplanque@outlook.com](mailto:marion.delplanque@outlook.com) (M. Delplanque)

**Introduction** Dix à 20 % des syndromes myélodysplasiques (SMD)/Leucémies myélomonocytaires chroniques (LMMC) pourraient être associés à diverses pathologies extra-hématologiques telles que des dermatoses neutrophiles, des vascularites systémiques, des arthrites inflammatoires, des pseudo-maladies de Behçet ou des polychondrites [1]. La fièvre, l'atteinte articulaire, le syndrome inflammatoire biologique marqué, le rash évanescentsont des symptômes fréquemment associés aux SMD et LMMC, mais ils peuvent également être les signes cardinaux caractéristiques de la maladie de Still de l'adulte (MSA). Les MSA associées aux SMD/LMMC existent, principalement décrites dans les néoplasies solides mais aussi hématologiques [2]. L'identification récente du VEXAS syndrome (vacuoles, enzyme E1, lié à l'X, auto-inflammatoire, somatique) lié à une mutation somatique de UBA1 [3] nous amène à nous interroger sur l'existence de telles mutations chez les patients présentant des tableaux d'autoinflammation de type MSA ou pseudo Still associés à des SMD/LMMC. Dans cette étude nationale française, nous avons donc cherché à décrire les patients atteints de SMD/LMMC présentant une fièvre récurrente inexpliquée avec des signes extra-hématologiques suggérant une MSA ainsi que leur pronostic/réponse thérapeutique et recherché la présence d'une mutation UBA1 chez ces patients.

**Patients et méthodes** Les caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques des 26 patients identifiés avec cette association étaient collectées et analysées dans une étude rétrospective multicentrique française. Le groupe témoin de SMD/LMMC était composé de 104 patients du registre du Groupe francophone des myélodysplasies avec SMD/LMMC. La présence d'une mutation UBA1 était réalisée chez 15 patients.