

Multiparameteranalytik in Diagnostik und Monitoring von Autoimmunerkrankungen: Stand und Perspektiven¹⁾

Multiparametric analyses in diagnostics and monitoring of autoimmune diseases: current state and perspectives

Karsten Conrad^{1,*} und Ulrich Sack²

¹Institut für Immunologie, Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden, Dresden, Deutschland

²Prof. Dr. Ulrich Sack, Institut für Klinische Immunologie, Medizinische Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung

Das meist lange präklinische Stadium, die große Variabilität in den klinischen Manifestationen sowie der Notwendigkeit einer frühzeitigen adäquaten Therapie von Autoimmunerkrankungen erfordern die Suche und Evaluierung geeigneter Biomarker, welche den Erkrankungsprozess zuverlässig reflektieren und eine sichere Frühdiagnostik sowie therapeutisch relevante Aussagen (Organmanifestationen, Aktivität, Erkrankungsentwicklung, Ansprechen auf bestimmte Therapieformen) zulassen. Bisher werden vorwiegend Autoantikörper für die serologische Diagnostik, Prognostik und teilweise auch für das Monitoring von Autoimmunerkrankungen herangezogen. Sie sind in Abhängigkeit von den diagnostischen Variablen wertvolle diagnostische Marker, jedoch in Bezug auf Prognostik, Aktivität und Therapieansprechbarkeit nicht oder nur eingeschränkt nutzbar. Ziel künftiger Entwicklungen sollte es daher sein, geeignete Kombinationen von krankheitsrelevanten Autoantikörpern oder Autoantikörper-Profilen und anderen Biomarkern zu finden, welche im Rahmen einer multiparametrischen Analytik eine verlässliche Frühdiagnostik, Prognostik und Theranostik garantieren und damit über eine optimierte

personalisierte Therapie wesentlich zur Verbesserung der medizinischen Betreuung von Patienten mit Autoimmunerkrankungen beitragen.

Schlüsselwörter: Autoimmunerkrankungen; Autoantikörper; Autoimmundiagnostik; Biomarker; Multiparameteranalytik.

Abstract

The for the most part long preclinical stages, the large variability of clinical manifestations as well as the need of an early adequate therapy of autoimmune diseases require the search for and evaluation of applicable biomarkers, which reliably reflect the disease process and allow for a definite early diagnosis as well as for therapeutically relevant evidence (disease activity and course, organ manifestations, reliability of different types of therapy). To date, mainly autoantibodies have been used for serological diagnostics, prognostics and partially also for monitoring of autoimmune diseases. Dependent on the diagnostic variables they are important diagnostic markers but the usefulness for prognostics, theranostics and disease monitoring is rather low. Therefore, the purpose of future developments should be to find adequate combinations of disease relevant autoantibodies and other biomarkers to realize a reliable early diagnosis as well as to obtain useful information regarding clinical course and reliability of different types of therapy. Such multiparametric analyses are the prerequisite for an optimized personalized therapy and therefore for the improvement of the medical care of patients with autoimmune diseases.

Keywords: autoantibodies; autoimmune diagnostics; autoimmune disease; biomarker; multiparametric analysis.

Einleitung

Die Labordiagnostik von Autoimmunerkrankungen (AIE) umfasst die Bestimmung von Entzündungsparametern, organspezifischen Parametern und erkrankungsspezifischen Autoantikörpern (AAK). Während erstgenannte Parameter auf entzündliche Prozesse und Organschäden unabhängig

¹⁾Dieser Artikel ist eine überarbeitete Version aus dem Buch: Karsten Conrad, Dirk Roggenbuck, Werner Lehmann, Uwe Schedler, Günter Peine (Hrsg.). Multiparameteranalytik in Forschung und Praxis; Pabst Science Publishers, Lengerich 2011, mit freundlicher Genehmigung von Pabst Science Publishers.

*Korrespondenz: PD Dr. Karsten Conrad, Institut für Immunologie Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden Fetscherstraße 74 01307 Dresden, Deutschland
Tel.: +351/458 6540
Fax: +351/458 6308
E-Mail: k_conrad@mail.zih.tu-dresden.de

von deren Ursachen hinweisen, können erkrankungsspezifische AAK als Zeichen einer autoimmunen Pathogenese gewertet werden. Viele dieser AAK können daher richtungsweisend sein für die Diagnostik und Therapie von AIE. Bei der Mehrzahl der bekannten AIE sind mehrere AAK mit diagnostischer und/oder prognostischer Relevanz nachweisbar. Aus Gründen der Kosten- und Zeitersparnis ist man daher bestrebt, alle für die entsprechende Erkrankung relevanten AAK in einem Testansatz mittels multiparametrischer Assays zu bestimmen.

Biomarker-Analytik bei Autoimmunerkrankungen

Was sind Autoimmunerkrankungen?

Leider gibt es bisher keine allseits anerkannte und allgemeingültige Definition von Autoimmunerkrankungen. Eine einfache Definition klassifiziert eine Autoimmunerkrankung als „Erkrankung mit signifikant erhöhter Frequenz von Autoantikörpern in signifikant erhöhten Titern im Vergleich zu gesunden regionalen alters- und geschlechtsgemachten Kontrollen“ [1]. Dies trifft sicher auf die Mehrzahl der bisher bekannten Autoimmunerkrankungen, aber auch auf nicht autoimmune Erkrankungen (z. B. Tumoren) zu. Darüber hinaus werden diejenigen Erkrankungen nicht erfasst, bei welchen charakteristische Autoantikörper nicht vorliegen (sondern

nur krankheitsspezifische autoreaktive T-Lymphozyten) oder bisher nicht identifiziert wurden. Im Allgemeinen werden Erkrankungen, bei denen autoimmune Mechanismen - unabhängig von auslösenden oder sonstigen pathogenetischen Faktoren - in der Pathogenese eine wesentliche Rolle spielen, als AIE angesehen. Diese Definition erfordert jedoch den exakten Nachweis der pathogenen Wirksamkeit krankheitsspezifischer Autoantikörper und/oder autoreaktiver T-Zellen. Im Einzelfall bleibt zu klären, ob man Erkrankungen, bei denen krankheitsspezifische Autoimmunphänomene nur eine Teilkomponente in der Immunpathologie darstellen (z. B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen), als Autoimmunerkrankung oder als autoinflammatorische Erkrankung definieren sollte [2]. Unabhängig von der zu Grunde liegenden Ätiopathogenese (siehe pathogenetische Klassifikation der Autoimmunerkrankungen in Tabelle 1) sind Autoantikörper entsprechend oben genannter Definition bei der Mehrzahl dieser Erkrankungen nachweisbar, auch bei vorwiegend T-lymphozytärer Genese (z. B. Diabetes mellitus Typ 1) oder autoinflammatorischer Komponente (z. B. Morbus Crohn). Somit stellen Autoantikörper trotz mangelhafter Erkenntnisse bezüglich Immunpathogenese wertvolle Biomarker für die serologische Diagnostik derartiger Erkrankungen dar. Darüber hinaus könnten im Rahmen einer optimierten personalisierten Therapie künftig weitere Biomarker, darunter auch genetische und epigenetische, an Bedeutung gewinnen [3, 4].

Tabelle 1 Mögliche Klassifikation von Autoimmunerkrankungen an Hand gegenwärtiger Erkenntnisse zur Immunpathogenese.

Monogene autoimmune Syndrome

Mutationen betreffen Gene, welche entscheidende Bedeutung für die Induktion und Aufrechterhaltung der immunologischen Toleranz haben

Erkrankungsbeispiele	APECED	IPEX	ALPS
Gendefekt	AIRE	FOXP3	FAS, FASL, CASP10
Folge des Gendefektes	Defekte Negativselektion autoreaktiver T-Zellen im Thymus	Fehlende Kontrolle autoreaktiver Zellen durch regulative T-Zellen	Fehlende Kontrolle autoreaktiver Zellen durch Apoptosestörungen

Polygene autoimmune Erkrankungen

Multifaktorielle Genese unter Beteiligung mehrerer Gene und exogener Faktoren

Erkrankungsgruppe	idiopathisch autoimmun	sekundär autoimmun	autoinflammatorisch-autoimmun
Charakteristika	Komplexe multifaktorielle Genese bei hyperreaktivem Immunsystem; Ursache unbekannt; permanente, meist progrediente Erkrankung; behandel-, aber nicht heilbar	Induktion durch exogene Antigene oder alterierte Autoantigene bei bestimmtem genetischem Background; Ursache bekannt oder vermutet; Erkrankung häufig transient bzw. heilbar	Sowohl autoinflammatorische als auch autoimmune Komponenten der Immunpathogenese bei primärer Störung in der angeborenen Immunabwehr
Beispiele	Mehrzahl der organspezifischen und systemischen Autoimmunerkrankungen, z. B. • Morbus Basedow • Bullöse Dermatosen • Systemischer Lupus erythematoses • Anti-Phospholipid-Syndrom	• Heparin induzierte Thrombozytopenie • Gluten sensitive Enteropathie • Guillain-Barré-Syndrom • Paraneoplastische autoimmune Erkrankungen	• Morbus Crohn • Morbus Bechterew • Idiopathische Uveitis

APECED, autoimmunes Polyendokrinopathie - Candidiasis - ektodermales Dystrophie-Syndrom; IPEX, Immundysregulation-Polyendokrinopathie - Enteropathie -X-linked-Syndrom; ALPS, autoimmune lymphoproliferative Syndrome; AIRE, Autoimmun-Regulator.

Gesundheitspolitische Bedeutung von Autoimmunerkrankungen

Viele der bekannten AIE sind recht selten und finden daher in Forschung und Praxis nicht die Beachtung, die ihnen eigentlich zukommen sollte. In ihrer Gesamtheit (bisher werden ca. 100 verschiedene Erkrankungen als autoimmun eingestuft) machen Autoimmunerkrankungen jedoch mindestens 5% aller Erkrankungen aus [5]. Leider fehlen verlässliche epidemiologische Daten zur genauen Inzidenz und Prävalenz der Krankheitsgruppe AIE. Schätzungen zufolge kann man in industrialisierten Ländern von einer Prävalenz von bis zu 8% ausgehen, bei teilweise steigender Tendenz [6]. Als Erkrankungsgruppe (unter Einschluss vieler seltener Erkrankungen) betrachtet, stehen AIE somit hinter Herz-Kreislauf- und Tumorerkrankungen an dritter Stelle in der Erkrankungshäufigkeit in industrialisierten Ländern. Sie zählen zu den 10 häufigsten Todesursachen bei Frauen und beginnen oft schon im Kindes- und Jugendalter. Für die Mehrzahl der AIE gibt es bisher keine kausale Therapie, jedoch können Progression der Erkrankung und schwerwiegende Manifestationen durch eine frühzeitige und adäquate Therapie mehr und mehr vermieden werden. Weitere Fortschritte in der Behandlung von AIE sind durch verbesserte Frühdiagnostik und gezielten (personalisierten) Einsatz therapeutischer Agenzien unter Einbeziehung von neuen Biologika zu erwarten. Für beide Bereiche (Frühdiagnostik und Prognostik/Theragnostik) sind optimale Biomarker-Kombinationen zu finden, zu evaluieren und der klinischen Praxis im Rahmen einer Multiparameteranalytik zugänglich zu machen.

Herausforderungen an die Biomarker-Analytik

Biomarker sind zelluläre, biochemische, molekulare oder genetische Alterationen, welche einen bestimmten, klinisch relevanten biologischen Prozess kennzeichnen. Trotz großem Erkenntniszuwachs der letzten Jahre ist der klinische Nutzen von Biomarkern derzeit noch begrenzt, wird aber mit Sicherheit in der Zukunft eine stärkere Bedeutung gewinnen. Auf Grund der Komplexität biologischer Prozesse ist es trotz der enormen Vielfalt potentiell relevanter Biomarker problematisch, die neuen Erkenntnisse in die klinische Praxis zu überführen. Nutzbare Biomarker müssen den klinisch relevanten biologischen Prozess zuverlässig und reproduzierbar widerspiegeln. Darüber hinaus sollten die Analysen zu verschiedenen Zeiten und in verschiedenen Laboren gleiche, zumindest aber ähnliche Ergebnisse erbringen. Auf dem Gebiet der AIE werden bezüglich Einsatz von Biomarkern in der Multiparameteranalytik folgende Zielstellungen verfolgt:

1. Frühere, schnellere und verlässlichere Diagnose mit daraus folgender früherer Therapie.
2. Adäquate Behandlung in Abhängigkeit von Stadium, Aktivität und Subtyp der Erkrankung.
3. Schnellere und effektivere klinische Studien.
4. Besseres Monitoring in Bezug auf Effektivität der Therapeutika und damit Optimierung der Therapie im Verlauf der Erkrankung.

Darüber hinaus könnten Biomarker-Kombinationen künftig verlässliche Aussagen über das Risiko einer Erkrankungsentwicklung in bestimmten Personengruppen (z. B. Verwandte 1. Grades von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1) liefern und diese Risikopersonen einer effektiven Prophylaxe- oder Therapiestudie zuführen.

Im Vergleich zu anderen Erkrankungsgruppen (z. B. kardiovaskuläre und Tumorerkrankungen) steckt die Biomarkerforschung bei AIE (Autoantikörper ausgenommen) noch in den Anfängen. Nützliche Biomarker für Autoimmunerkrankungen sollten Parameter sein, welche abnorme Titer (erhöht oder erniedrigt im Vergleich zu Kontrollen) in Assoziation mit der Krankheitsentwicklung exprimieren, mit der Krankheitsaktivität und/oder Schwere der Erkrankung korrelieren und sich bei erfolgreicher Therapie normalisieren, und damit wertvolle Marker sowohl für die (Früh)Diagnostik als auch das Monitoring darstellen [7]. Es ist kaum anzunehmen, dass ein einzelner Parameter diese Aufgabe erfüllen kann. Wahrscheinlicher ist es, dass bestimmte Markerkombinationen im Rahmen einer multiparametrischen Analytik künftig hierfür eingesetzt werden. Neben AAK kommen dafür z. B. (a) Degradationsprodukte, welche die Zerstörung des betroffenen Gewebes reflektieren, (b) Enzyme, die am Prozess der Gewebszerstörung beteiligt sind sowie (c) Zytokine und andere Mediatoren der pathologischen Immunprozesse und entzündlichen Reaktionen in Betracht.

Bedeutung der multiparametrischen Biomarkeranalytik bei Autoimmunerkrankungen

Auf Grund der großen Variabilität in den klinischen Manifestationen und dem meist langen präklinischen Stadium von AIE kommt der Biomarkeranalytik eine besondere Bedeutung zu. Die klinische Diagnostik vieler – insbesondere systemischer – AIE wird dadurch erschwert, dass der Verlauf zu Beginn der Erkrankung unspezifisch und variabel sein kann. Eine frühzeitige Bestimmung erkrankungsspezifischer AAK (z. B. CCP-AAK bei Verdacht auf rheumatoide Arthritis) kann richtungsweisend sein für die weitere Diagnostik und Therapie. Viele der diagnostisch relevanten AAK sind bereits präklinisch nachweisbar. Es fehlen jedoch nach wie vor verlässliche prädiktive, prognostische und theragnostische Marker zur Optimierung der Therapie von AIE.

Multiparametrische Bestimmung von Autoantikörpern

Bei simultaner Bestimmung von mehreren AAK mittels multiparametrischer Assays kann die Zeit der Diagnosefindung im Vergleich zur konventionellen Stufendiagnostik verkürzt werden. Neben der Zeiteinsparung sind auch die Automatisierbarkeit und (in Abhängigkeit von der technologischen Lösung) die deutliche Kostenreduktion Argumente, die für den Einsatz multiparametrischer Assays sprechen. Darüber hinaus ergeben sich zahlreiche Vorteile aus klinisch-diagnostischer Sicht [8]:

1. Die Sensitivität für die Diagnostik einer bestimmten AIE kann durch Kombination unabhängiger

Marker-Antikörper erhöht werden. So sind z. B. bei der systemischen Sklerose (Sklerodermie) AAK gegen DNA-Topoisomerase I, centromere (CENP-A, CENP-B), nukleoläre (Fibrillarin, Th/To, PM/Scl100, PM/Scl75) oder andere nukleäre (U1-RNP, RNA-Polymerase III) Antigene relativ spezifisch für die Sklerodermie, aber jeweils nur in einer Teilpopulation der Erkrankten nachweisbar [9–11]. Gleiches gilt auch für AAK bei autoimmunen Myositiden (siehe Tabelle 2). Zum

Schließen von noch vorhandenen diagnostischen Lücken ist die Suche nach und die Identifizierung von weiteren erkrankungsspezifischen AAK erforderlich [23–27, 38].

- Die diagnostische Sicherheit kann durch den parallelen Nachweis von erkrankungsassoziierten AAK erhöht werden. So ist z. B. der Nachweis von IgM- und IgA-Rheumafaktoren zusammen mit RA33-Antikörpern bei CCP-Antikörper negativen Patienten hoch spezifisch für die serologische Diagnostik der rheumatoiden Arthritis

Tabelle 2 Autoantikörperprofile bei systemischen Autoimmunerkrankungen.

Erkrankung	Autoantikörper gegen			Lit
	Erkrankungsspezifische ^a	Erkrankungsassoziierte ^b	Potentiell relevante ^c	
Systemischer Lupus erythematodes	<ul style="list-style-type: none"> • dsDNA • Sm • PCNA • Ribosomale Phosphoproteine P0, P1, P2 (RibP) 	<ul style="list-style-type: none"> • Nukleosom • Histon • Ku • U1-RNP • SS-A/Ro60, Ro52 • SS-B/La • RA33 • Clq • Phospholipide 	<ul style="list-style-type: none"> • Aquaporin 4 • Ganglioside • Thrombopoietin-Rezeptor 	[12–18]
Systemische Sklerose (Sklerodermie)	<ul style="list-style-type: none"> • CENP-A/CENP-B (ACA) • DNA-Topoisomerase I (Scl70) • RNA-Polymerase-I, -III • Th/To • Fibrillarin 	<ul style="list-style-type: none"> • RNA-Polymerase-II • PM/Scl-75, PM/Scl-100 • U1-RNP • Ro52 • Proteine des Alpha-Ketosäure-Dehydrogenase-Komplexes (AMA-M2) • IFI16 • Ku 	<ul style="list-style-type: none"> • Nukleophosmin (Phosphoprotein B23) • Fibrillin 1 • PDGF-Rezeptor • MMP-1, MMP-3 • M-Phase Phosphoprotein 10 • Angiotensin II Typ 1-Rezeptor (AT₁R) • Endothelin-1 Typ A-Rezeptor (ET_AR) • PHET • muskarinerger Typ 3 AChR 	[9–11, 19, 20]
Sjögren-Syndrom	<ul style="list-style-type: none"> • SS-A/Ro60 • SS-B/La 	<ul style="list-style-type: none"> • Ro52 • α-Fodrin 	<ul style="list-style-type: none"> • Golgi-Apparat-Antigene • NuMA • muskarinerger Typ 3 AChR 	[21, 22]
Autoimmune Myositiden (Polymyositis, Dermatomyositis, CADM, Einschlusskörpermyositis, Statin-assoziierte Myositis)	<ul style="list-style-type: none"> • tRNA-Synthetasen: Histidyl-(Jo-1), Threonyl-(PL7), Alanin- (PL12), Asparaginy- (KS), Glycyl- (EJ), Isoleucyl- (OJ), Lysyl- (SC), Leucyl-, Glutaminyl-, Tyrosyl-, Phenylalanyl- (Zo) • Mi-2 • SRP • CADM-140 (p140; MDA-5 kodierte RNA-Helicase) • TIF1-γ (p155/140) 	<ul style="list-style-type: none"> • PM/Scl-75, PM/Scl-100 • Ku • U1-RNP • U2-RNP • Proteasom • Ro52 • DNA-Proteinkinase 	<ul style="list-style-type: none"> • Mas • Elongationsfaktor 1α (Fer) • KJ • Wa • PMS1 • SAE1, SAE2 • Mup4 • HMGCR 	[23–37]

^aMarkerantikörper für die Diagnostik; ^bauch bei anderen Autoimmunerkrankungen vorkommend, relevant im Rahmen von Profilen oder in Bezug auf Differentialdiagnostik oder Prognostik; ^cweitere Untersuchungen zur klinischen Relevanz erforderlich, z.T. pathogenetisch bedeutsam. RA, rheumatoide Arthritis; ACA, Anti-Centromer-Antikörper; AMA, antimitochondriale Antikörper; MMP, Matrix-Metalloproteinase; IFI16, *interferon gamma-inducible protein 16*; PHET, *protein highly expressed in testis*; AChR, Acetylcholin-Rezeptor; CADM-140, *clinically amyopathic dermatomyositis* p140-Antigen; PM, Polymyositis; SAE1/2, *small ubiquitin-like modifier 1 (SUMO-1) activating enzyme A/B subunit*; HMGCR, 3-Hydroxy-3-Methylglutarylcoenzym A-Reduktase; SRP, *signal recognition particle*; MDA-5, *melanoma differentiation-associated gene 5*; TIF1-γ, *transcriptional intermediary factor 1-γ*.

[39]. Kombinationen verschiedener Anti-Phospholipid-Antikörper sowie AAK gegen Phospholipid-assoziierte Proteine erhöhen die diagnostische Sicherheit bezüglich des Vorliegens eines Anti-Phospholipid-Syndroms. Hintergrund für dieses Phänomen ist die sich im Verlauf der AIE ausweitende Autoimmunantwort infolge intra- und intermolekularen Epitop-Spreadings. Auch bei autoimmunen Polyneuropathien (PNP) geht der gleichzeitige Nachweis mehrerer Gangliosid-Antikörper mit einer Erhöhung der diagnostischen Sicherheit einher (siehe AAK-Profile in Tabelle 3). Autoantikörper gegen Ganglioside sind serologische Marker für idiopathische oder postinfektiöse (Campylobacter jejuni, Cytomegalievirus) autoimmune Polyneuropathien. Die diagnostische Relevanz der verschiedenen Anti-Gangliosid-Antikörper ist abhängig von Epitopspezifität, Isotyp und Titer. Während Anti-GM1-Antikörper vom IgM-Typ auch bei anderen Erkrankungen vorkommen können, sind z. B. Anti-GQ1b-Antikörper vom IgG-Typ hochspezifisch für bestimmte Formen autoimmuner PNP. Die diagnostische Spezifität steigt mit dem Titer der jeweiligen Autoantikörper und der simultanen Expression von mehreren Anti-Gangliosid-Antikörpern. Eine Anti-Gangliosid-Antikörperprofilanalytik ist daher der Bestimmung einzelner Autoantikörper vorzuziehen.

3. Seltene AAK (z. B. verschiedene Myositis spezifische Antikörper, siehe Tabelle 2) können relativ kostenneutral in die Routinediagnostik überführt werden (z. B. in Line- oder Dot-Immunoassays), sofern das entsprechende Autoantigen in hochreiner Form vorliegt.
4. Neue, potentiell klinisch relevante AAK (Beispiele siehe Tabelle 2) können schneller evaluiert und in die Routinediagnostik integriert werden.
5. Neben diagnostischen können zusätzlich auch Hinweise auf andere klinische Aspekte gewonnen werden. So können auch AAK mit geringerer Erkrankungsspezifität in die Multiparameteranalytik integriert werden, wenn diese sichere Aussagen zum klinischen Verlauf, zu Organmanifestationen oder zum Ansprechen auf bestimmte Therapien zulassen.
6. Je nach diagnostischer Fragestellung können entsprechende Kombinationen von AAK (AAK-Profile), künftig möglicherweise ergänzt durch andere serologische Biomarker, zusammengestellt werden.

Vorteil einer multiparametrischen AAK-Analytik ist also der Zeit und Kosten sparende Informationsgewinn, sofern man gut evaluierte Parameter in die entsprechenden Assays integriert hat. So können z. B. mit einem Testansatz neben wichtigen diagnostischen auch für die medizinische Betreuung relevante Hinweise (Art und Intervall von Verlaufsuntersuchen, therapeutisches Vorgehen) gewonnen werden. Insbesondere bei heterogenen Krankheitsbildern wie SLE, systemischer Sklerose (Sklerodermie) oder autoimmunen Myositiden können AAK für die serologische Differenzierung bezüglich klinischer Subsets und bezüglich des klinischen Verlaufes hilfreich sein. Die Bedeutung der multiparametrischen AAK-Analytik sei im Folgenden an einigen Beispielen exemplarisch aufgezeigt.

Beispiel Sklerodermie: Anti-Centromer-Antikörper (ACA) sind typischerweise mit der limitierten Form der systemischen Sklerodermie und der Entwicklung einer pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH) assoziiert. Weiterhin sind DNA-Topoisomerase I (Scl70)-Antikörper

Tabelle 3 Gangliosid-Autoantikörper-Profile bei verschiedenen Entitäten autoimmuner Polyneuropathien (Gelb: Hauptreaktivitäten, Grün: Nebenreaktivitäten).

	GM1	GM2	GM3	GD1a	GD1b	GD2	GD3	GT1a	GT1b	GQ1b
GBS/AIDP	IgG>IgM			IgG	IgG				IgG	
GBS/AMAN und AMSAN	IgG			IgG	IgG				IgG	
GBS nach CMV-Infektion	IgM	IgM		IgM	IgM					
GBS mit Ataxie					IgG					
GBS mit ONS	IgG			IgG				IgG		IgG
GBS mit Ophthalmoplegie								IgG		IgG
MFS					IgG		IgG	IgG	IgG	IgG
Bickerstaff-Enzephalitis								IgG	IgG	IgG
CANOMAD, chronisch sensorisch-ataktische Neuropathie			IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM
MMN	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM					
CIDP	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM					
Motorische Neuropathie mit monoklonaler IgM-Gammopathie	IgM				IgM					

GBS, Guillain-Barré-Syndrom; AIDP, akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie; AMAN, akute Motor-axonale Neuropathie; AMSAN, akute Motor-sensorische axonale Neuropathie; CMV, Cytomegalievirus; ONS, akute Parese der oropharyngealen, Nacken- und Schultermuskulatur unter Aussparung der Extremitäten; MFS, Miller-Fisher-Syndrom; CANOMAD, chronische ataktische Polyneuropathie, Ophthalmoplegie, monoklonales IgM-Protein, Kälteagglutinin, Disialosyl-Antikörper; MMN, Multifokale motorische Neuropathie; CIDP, Chronische demyelinisierende Polyneuropathie.

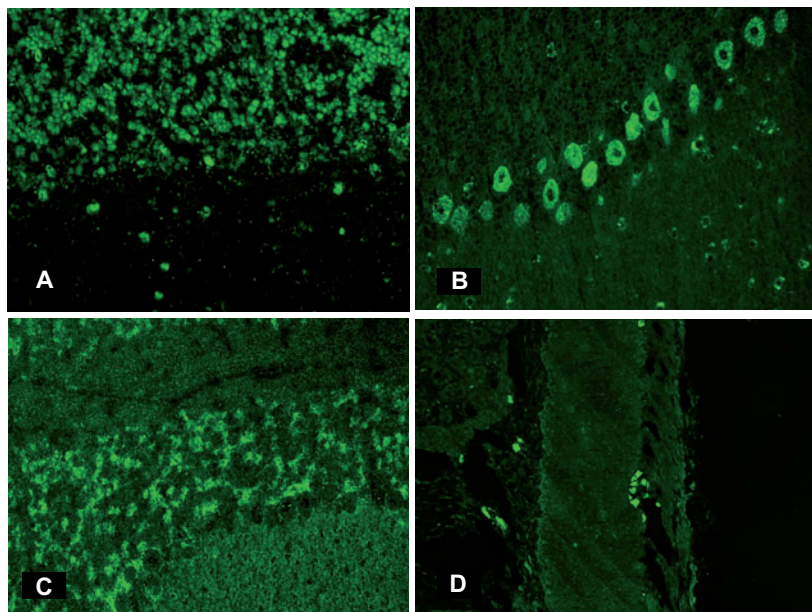


Abbildung 1 Organkryostatschnitte vom Kleinhirn (A–C) in Kombination mit anderen Organkryostatschnitten, hier Magen (D) erlauben eine multiparametrische Analytik von AAK gegen onkoneurale Antigene. (A, D) Hu-Antikörper: Färbung der Zellkerns der Neuronen sowie des Plexus Myentericus (B) Yo-Antikörper: Färbung des Zytoplasma der Purkinje-Zellen, (C) Amphiphysin-Antikörper: Färbung der Neuropili in der Molekularschicht und intensive granuläre Färbung der Perikarya in der Körnerschicht.

mit diffuser Sklerodermie und schwerer Lungenfibrose, Th/To-Antikörper mit limitierter Hautsklerose, aber dem Risiko schwerer Organbeteiligung (Niere, PAH, Lungenfibrose) sowie RNA-Polymerase-I/III-Antikörper mit häufiger Nierenbeteiligung assoziiert [9–11]. Kürzlich sind von Riemekasten et al. AAK gegen Angiotensin II Typ 1-R- (AT_1R) und Endothelin-1 Typ A-Rezeptoren ($ET_A R$) beschrieben worden, welche zwar bei allen klinischen Formen nachweisbar sind, deren Titer aber mit der Schwere der Manifestationen sowie der Sklerodermie-assoziierten Mortalität korrelieren [19]. Weitere AAK mit potentieller pathogenetischer und/oder klinischer Bedeutung bei Erkrankungen des Sklerodermie-Spektrums sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Beispiel idiopathische (autoimmune) Myositiden: Myositis-spezifische und teilweise auch Myositis-assoziierte AAK sind hier neben der Primärdiagnostik v. a. für die Subklassifikation/Prognostik der verschiedenen Verlaufsformen relevant. Klassisch werden die immunologisch bedingten Myositiden in Dermatomyositis (DM), Polymyositis (PM) und Einschlusskörpermyositis eingeteilt. Obwohl diese Erkrankungen gemeinsame Merkmale aufweisen, sind sie jedoch hinsichtlich Ätiopathogenese, Verlauf und Therapieansprechen recht heterogene Krankheitsbilder, welche auch mit unterschiedlichen AAK-Spezifitäten assoziiert sind [28–34]. Relativ spezifisch für die DM sind AAK gegen Mi-2 (Hauptkomponente des Nukleosom-remodellierenden Deacetylase-Komplexes), CADM-140 (p140, eine vom MDA5-Gen kodierte RNA-Helikase) und p155/160 (*transcriptional intermediary factor 1- γ* , TIF1- γ). Während Mi-2-Antikörper bei der „klassischen“ DM zu finden

sind, wurden CADM-140-Antikörper als Marker für die klinisch amyopathische DM (*clinically amyopathic dermatomyositis*, CADM) mit rapid progressiver Lungenerkrankung identifiziert [23]. TIF1- γ -Antikörper hingegen sind vorwiegend bei Tumor-assoziiert DM (*cancer associated myositis*, CAM) zu finden [24]. Weitere, mit bestimmten AAK einhergehende Myositis-Formen sind das Anti-Synthetase-Syndrom (assoziiert mit AAK gegen tRNA-Synthetasen, v. a. Jo-1; siehe Tabelle 2), die Therapie-resistente nekrotisierende PM mit SRP-Antikörpern sowie zahlreiche Overlap-Syndrome mit Myositis (Sharp-Syndrom: U1-RNP-Antikörper; PM-Sklerodermie-Overlap-Syndrome: PM/Scl-, Ku-Antikörper; Overlap mit Sjögren-Syndrom oder SLE: Ro/SS-A, La/SS-B-Antikörper). Darüberhinaus wurden kürzlich neue AAK bei der Statin-assoziierten autoimmunen Myopathie sowie der Einschlusskörpermyositis identifiziert [36, 37]. So kann die AAK-Profilanalytik (zusammen mit der Muskelhistologie) die Frühdiagnostik der verschiedenen Myositisformen erheblich verbessern helfen und damit eine frühe adequate Therapie ermöglichen, die wesentlich dazu beiträgt, die Langzeitprognose bei diesen Patienten zu verbessern.

Beispiel paraneoplastische neurologische Syndrome (PNS): Neurologische Syndrome, welche mit einem Tumor assoziiert, aber nicht auf eine lokale Wirkung des Tumors oder seiner Metastasen zurückzuführen sind, werden als paraneoplastisch definiert. Die Ursachen hierfür können Hormone, aber auch Autoimmunprozesse sein. Bei den autoimmunen Formen kommt es, induziert durch ektopisch im Tumor exprimierte Antigene, zur Bildung von AAK und autoreaktiven T-Lymphozyten gegen das kreuzreagierende

Antigen im neuralen Gewebe. PNS gehen in 60–70% der Entdeckung des Tumors voraus. Sie sind schwere, aber potentiell behandelbare Erkrankungen, die eine frühe und sichere Diagnose erfordern. Die bei diesen Erkrankungen nachweisbaren AAK gegen onkoneurale Antigene (ONA) sind hochspezifisch für PNS [40]. Die ONA-Antikörperspezifitäten sind jedoch mehr mit den zu Grunde liegenden Tumoren als den neurologischen Syndromen assoziiert. Da nahezu alle neuropathischen Manifestationen einen paraneoplastischen Hintergrund haben können, sollte somit bei Verdacht auf ein PNS auf möglichst alle bisher bekannten ONA-Antikörper gescreent werden [41, 42]. Mit der Immunfluoreszenz an Kryostatschnitten von Kleinhirn und anderen Organen (Beispiel s. Abbildung 1) können z. B. AAK gegen neuronale nukleäre (Hu/ANNA-1, Ri/ANNA-2, ANNA-3, Zic4) oder nukleoläre (Ma-1, Ta/Ma-2, Ma-3) Antigene, gegen zytoplasmatische Antigene von Purkinje-Zellen (Yo/PCA-1, PCA-2, Tr/PCA-Tr) oder Oligodendrozyten (CV-2/CRMP-5) und gegen Bergmann-Glia (AGNA) gefunden werden [42–51]. Auch AAK gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD), Amphiphysin (Abbildung 1) und metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGluR1) sind bei PNS nachweisbar [42, 52–54]. Entsprechend den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Neurologie sollte ein positiver Befund immer durch eine zweite unabhängige Methode bestätigt werden. Hierfür stehen derzeit Dot/Line-Immunoassays und Immunoblots zur Verfügung. Die Anzahl der bestimmbaren AAK wird sicher in Zukunft in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit entsprechender rekombinanter ONA noch steigen.

Integration weiterer Biomarker

Wie bereits ausgeführt, werden künftig sicher auch andere Biomarker v. a. für das Aktivitätsmonitoring und die Therapieverlaufskontrolle bei AIE eingeführt werden. Ob diese im Rahmen einer Multiparameteranalytik zusammen mit den AAK-Profilen bestimmt werden können oder auf Grund technologischer Details mittels separater Assays bestimmt werden müssen, bleibt abzuwarten.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Um AIE immer erfolgreicher behandeln zu können, sind eine verbesserte Frühdiagnostik, Prognostik und Theranostik und darauf aufbauend ein gezielter (personalisierter) Einsatz therapeutischer Agenzien unter Einbeziehung von neuen Biologika erforderlich. Hierfür ist es notwendig, optimale Biomarker-Kombinationen zu finden, zu evaluieren und der klinischen Praxis im Rahmen einer Multiparameteranalytik zugänglich zu machen.

Literatur

1. Feltcamp TE. The mystery of autoimmune diseases. In: Shoenfeld Y, editor. The decade of autoimmunity. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1999:1–5.
2. Galeazzi M, Gasbarrini G, Ghirardello A, Grandemange S, Hoffman HM, Manna R, et al. Autoinflammatory syndromes. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(Suppl 40):79–85.
3. Freeman HJ. Risk factors in familial forms of celiac disease. *World J Gastroenterol* 2010;16:1828–31.
4. Huber LC, Stanczyk J, Jüngel A, Gay S. Epigenetics in inflammatory rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2007;56:3523–31.
5. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;84:223–43.
6. Shapira Y, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Defining and analyzing geoepidemiology and human autoimmunity. *J Autoimmun* 2010;34:168–77.
7. Prince EP. Biomarkers for diagnosing and monitoring autoimmune diseases. *Biomarkers* 2005;10(Suppl 1):44–9.
8. Conrad K, Schöbner W, Sack U. Verbesserung der serologischen Autoimmundiagnostik durch multiparametrische Autoantikörper-Analytik. In: Conrad K, Lehman W, Sack U, Schedler U, editors. Multiparameteranalytik – Methoden, Applikationen, Perspektiven. Berlin, Pabst Science Publishers, 2008:261–302.
9. Grassegger A, Pohla-Gubo G, Frauscher M, Hintner H. Autoantibodies in systemic sclerosis (scleroderma): clues for clinical evaluation, prognosis and pathogenesis. *Wien Med Wochenschr* 2008;158:19–28.
10. Mierau R, Genth E. Sklerodermie-assoziierte Autoantikörper – klinische und diagnostische Relevanz. *Z Rheumatol* 2006;65:279–84.
11. Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35–42.
12. Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scandinavian J Immunol* 2006;64:227–35.
13. Wandinger KP, Stangel M, Witte T, Venables P, Charles P, Jarius S, et al. Autoantibodies against aquaporin-4 in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2010;62:1198–200.
14. Moroni G, Radice A, Giammarresi G, Quaglini S, Gallelli B, Leoni A, et al. Are laboratory tests useful for monitoring the activity of lupus nephritis? A 6-year prospective study in a cohort of 228 patients with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:234–7.
15. Kallenberg CG. Anti-C1q autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2008;7:612–5.
16. Matsuki Y, Hidaka T, Matsumoto M, Fukushima K, Suzuki K. Systemic Lupus erythematosus demonstrating serum anti-GM1 antibody, with sudden onset of drop foot as the initial presentation. *Internal Med* 1999;38:729–32.
17. Sindern E, Stark E, Haas J, Steck AJ. Serum antibodies to GM1 and GM3-gangliosides in systemic lupus erythematosus with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Acta Neurol Scand* 1991;83:399–402.
18. Kuwana M, Okazaki Y, Kajihara M, Kaburaki J, Miyazaki H, Kawakami Y, et al. Autoantibody to c-Mpl (thrombopoietin receptor) in systemic lupus erythematosus: relationship to thrombocytopenia with megakaryocytic hypoplasia. *Arthritis Rheum* 2002;46:2148–59.
19. Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, et al. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2011;70:530–6.
20. Yasuoka H, Kuwana M. Autoantibody response against a novel testicular antigen protein highly expressed in testis (PHET) in SSc patients. *Autoimmun Rev* 2007;6:228–31.

21. Goëb V, Salle V, Duhaut P, Jouen F, Smail A, Ducroix JP, et al. Clinical significance of autoantibodies recognizing Sjögren's syndrome A (SSA), SSB, calpastatin and alpha-fodrin in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 2007;148:281–7.
22. Loch H, Pelcka R, Manthorpe R. Clinical manifestations correlated to the prevalence of autoantibodies in a large (n=321) cohort of patients with primary Sjögren's syndrome. A comparison of patients initially diagnosed according to the Copenhagen classification criteria with the American-European consensus criteria. *Autoimmun Rev* 4 2005;4:276–81.
23. Sato S, Hoshino K, Satoh T, Fujita T, Kawakami Y, Fujita T, et al. RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: association with rapidly progressive interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2009;60:2193–200.
24. Hoshino K, Muro Y, Sugiura K, Tomita Y, Nakashima R, Mimori T. Anti-MDA5 and anti-TIF1-gamma antibodies have clinical significance for patients with dermatomyositis. *Rheumatology* 2010;49:1726–33.
25. Betteridge ZE, Gunawardena H, Chinoy H, North J, Ollier WE, Cooper RG, et al. UK Adult Onset Myositis Immunogenetic Collaboration. Clinical and human leucocyte antigen class II haplotype associations of autoantibodies to small ubiquitin-like modifier enzyme, a dermatomyositis-specific autoantigen target, in UK Caucasian adult-onset myositis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1621–5.
26. Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ. Myositis-specific autoantibodies: their clinical and pathogenic significance in disease expression. *Rheumatology* 2009;48:607–12.
27. Hengstman GJ, Brouwer R, Vree Egberts WT, Seelig HP, Jongen PJ, van Venrooij WJ, et al. Clinical and serological characteristics of 125 Dutch myositis patients. Myositis specific autoantibodies aid in the differential diagnosis of the idiopathic inflammatory myopathies. *J Neurol* 2002;249:69–75.
28. Hirakata M. Humoral aspects of polymyositis/dermatomyositis. *Mod Rheumatol* 2000;10:199–206.
29. Sordet C, Goetz J, Sibilia J. Contribution of autoantibodies to the diagnosis and nosology of inflammatory muscle disease. *Joint Bone Spine* 2006;73:646–54.
30. Ghirardello A, Rampudda M, Ekholm L, Bassi N, Tarricone E, Zampieri S, et al. Diagnostic performance and validation of autoantibody testing in myositis by a commercial line blot assay. *Rheumatology* 2010;49:2370–4.
31. Váncsa A, Gergely L, Panyi A, Lakos G, Németh J, Szodoray P, et al. Myositis-specific and myositis-associated antibodies in overlap myositis in comparison to primary dermatopolymyositis: relevance for clinical classification: retrospective study of 169 patients. *Joint Bone Spine* 2010;77:125–30.
32. Mammen AL. Dermatomyositis and polymyositis: clinical presentation, autoantibodies, and pathogenesis. *Ann NY Acad Sci* 2010;1184:134–53.
33. Häussermann A, Gillissen A, Seidel W. Das Anti-Jo-1-Syndrom – eine Sonderform der Myositis mit interstitieller Lungenerkrankung. *Pneumologie* 2010;64:496–503.
34. Feist E, Schneider ML, Brychcy M, Dörner T, Burmester GR, Hiepe F. A unique autoantibody pattern of positive anti-Jo-1, anti-U1RNP, and antiproteasome antibodies in autoimmune myositis as a diagnostic challenge. *Ann Rheum Dis* 2003;62:370–1.
35. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2011;10:150–4.
36. Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, Rosen P, Rosen A, Doering KR, et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* 2011;63:713–21.
37. Pluk H, van Engelen BG, Pruijn GJ. Anti-Mup44: the first inclusion body myositis-specific autoantibody. In: Conrad K, Chan EK, Fritzler MJ, Humbel RL, Meroni PL, Shoenfeld Y, editors. From prediction to prevention of autoimmune diseases. Pabst Science Publishers, Lengerich 2011:210.
38. Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Reinhold D, Büttner T, Jungblut PR, et al. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 2009;58:1620–8.
39. Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Dörner T. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2010;9:431–5.
40. Voltz R. Marker paraneoplastischer neurologischer Erkrankungen. *J Lab Med* 2004;28:431–8.
41. Pittock SJ, Kryzer TJ, Lennon VA. Paraneoplastic antibodies coexist and predict cancer, not neurological syndrome. *Ann Neurol* 2004;56:715–79.
42. Shams'ili S, Grefkens J, deLeeuw B, van den Bent M, Hooijkaas H, van der Holt B, et al. Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: analysis of 50 patients. *Brain* 2003;126:1409–18.
43. Bataller L, Wade DF, Graus F, Stacey HD, Rosenfeld MR, Dalmau J. Antibodies to Zic4 in paraneoplastic neurologic disorders and small-cell lung cancer. *Neurology* 2004;62:778–82.
44. Bernal F, Shams'ili S, Rojas I, Sanchez-Valle R, Saiz A, Dalmau J, et al. Anti-Tr antibodies as markers of paraneoplastic cerebellar degeneration and Hodgkin's disease. *Neurology* 2003;60:230–4.
45. Pittock SJ, Lucchinetti CF, Lennon VA. Anti-neuronal nuclear autoantibody type 2: paraneoplastic accompaniments. *Ann Neurol* 2003;53:580–7.
46. Rosenfeld MR, Eichen JG, Wade DF, Posner JB, Dalmau J. Molecular and clinical diversity in paraneoplastic immunity to Ma proteins. *Ann Neurol* 2001;50:339–48.
47. Honnorat J, Antoine JC, Derrington E, Aguera M, Belin MF. Antibodies to a subpopulation of glial cells and a 66 kDa developmental protein in patients with paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1996;61:270–8.
48. Chan KH, Vernino S, Lennon VA. ANNA-3 anti-neuronal Nnuclear antibody: marker of lung cancer-related autoimmunity. *Ann Neurol* 2001;50:301–11.
49. Graus F, Keime-Guibert F, Rene R, Benyahia B, Ribalta T, Ascaso C, et al. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients. *Brain* 2001;124:1138–48.
50. Vernino S, Lennon VA. New purkinje cell antibody (PCA-2): marker of lung cancer-related neurological autoimmunity. *Ann Neurol* 2000;47:297–305.
51. Graus F, Vincent A, Pozo-Rosich P, Sabater L, Saiz A, Lang B, et al. Anti-glial nuclear antibody: marker of lung cancer-related paraneoplastic neurological syndromes. *J Neuroimmunol* 2005;165:166–71.
52. De Camilli P, Thomas A, Cofield R, Folli F, Lichte B, Piccolo G, et al. The synaptic vesicle-associated protein amphiphysin is the 128-kD autoantigen of Stiff-Man syndrome with breast cancer. *J Exp Med* 1993;178:2219–23.
53. Sillevius Smitt P, Kinoshita A, De Leeuw B, Moll W, Coesmans M, Jaarsma D, et al. Paraneoplastic cerebellar ataxia due to autoantibodies against a glutamate receptor. *N Engl J Med* 2000;342:21–7.
54. Rakocevic G, Raju R, Dalakas MC. Anti-Glutamic acid decarboxylase antibodies in the serum and cerebrospinal fluid of patients with stiff person syndrome. *Arch Neurol* 2004;61:902–4.