

Immundiagnostik autoimmuner Enzephalitiden

Autoimmune und paraneoplastische Enzephalitiden sind in der Neurologie, in der Psychiatrie und in der Neuropädiatrie inzwischen gut etabliert. Die meisten Ärzte dieser Fachrichtungen haben schon betroffene Patienten mitbetreut. Die Diagnose dieser Autoimmunenzephalitiden hängt wesentlich vom Nachweis neuraler und oligodendroglialer Autoantikörper ab. Antikörper gegen Oberflächenantigene werden nach internationalen Standards durch zellbasierte Assays nachgewiesen; Antikörper gegen intrazelluläre (onkoneurale) Antigene werden durch die Kombination aus Immunoblot und gewebebasiertem Assay diagnostiziert. Diese Diagnostik ist material-, personal- und zeitaufwendig. Indem sie in Form einer Panel- und Multiblot-Diagnostik erfolgt, ist sie dennoch effizient und schnell. Das grösste Risiko besteht gegenwärtig nicht in der mangelnden Sensitivität der Tests, sondern in einer zu liberalen Interpretation von Befunden.



Christian G. Bien



Corinna I. Bien

von Christian G. Bien^{1,2} und Corinna I. Bien²

Einleitung

Antikörper gegen neurale Strukturen bei Patienten mit nicht infektiösen Enzephalitiden sind seit den 1980er-/1990er-Jahren bekannt. Damals entdeckten Wissenschaftler, dass Patienten mit limbischer Enzephalitis oder Kleinhirndegeneration und peripheren Krebserkrankungen (meistens kleinzellige Bronchialkarzinome) im Serum und im Liquor Antikörper gegen Proteine im Innern von Nervenzellen (anti-Hu, -Yo, -Ma etc.) aufwiesen. Der Nachweis dieser «onkoneuralen» Antikörper hat bis heute eine hohe diagnostische und prognostische Bedeutung. Nicht selten führt der Nachweis solcher Antikörper zur Entdeckung eines bis dahin unentdeckten Tumors (1). In den 2000er/2010er-Jahren gelang die Entdeckung von Antikörpern gegen Oberflächenstrukturen von Nervenzellen bei Patienten mit häufig nicht paraneoplastischen Autoimmunenzephalitiden (2). Der bekannteste und zahlenmässig wichtigste dieser Antikörper ist derjenige gegen den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR) (3). Etwa seit der gleichen Zeit haben sich die Antikörper gegen Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) als Marker demyelinisierender ZNS-Erkrankungen, namentlich der kindlichen akuten demyelinisierenden Enzephalomyelitis (ADEM), etabliert (4). Für eine wachsende Zahl dieser Oberflächenantikörper wird auch eine pathogene Rolle nachgewiesen (2).

¹ Epilepsie-Zentrum Bethel
Krankenhaus Mara
D-33617 Bielefeld

² Labor Krone
D-32105 Bad Salzuffen

Methoden des Antikörpernachweises

Die onkoneuralen Antikörper weist man in einem Blot-system (das die Zielantigene denaturiert) und einem gewebebasierten Assay (Nagerhirnschnitt) nach. Die Oberflächenantikörper stellen sich im gewebebasierten Assay durch ihre Bindung ans Neuropil dar; das zugrunde liegende Antigen lässt sich mittels zellbasierter Assays mit Präsentation konformationell intakter Antigene nachweisen. Hierzu werden Human-Embryonic-Kidney-(HEK-)Zellen mit den gewünschten Antigenen transfiziert; wenn entsprechende Antikörper in dem zu testenden Material enthalten sind, binden diese an die HEK-Zellen und können mit einem Immunfluoreszenzfarbstoff unter dem Mikroskop sichtbar gemacht werden (5) (Abbildung 1). Mitunter erfasst man mit dem gewebebasierten Assay Antikörper, für die noch kein spezifisches Antigen bekannt ist oder für die in der Routinediagnostik noch keine Standardtestung verfügbar ist. Forschungslabors können dann den spezifischen Nachweis führen (Abbildung 2).

Zunehmende Aufmerksamkeit gewinnt die Diagnostik auf Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein-(MOG-)Antikörper. Im Unterschied zu den meisten Antigenen, die eine Fixierung der HEK-Zellen zulassen, führt hier der Einsatz von Live-Cell-Assays zu einer höheren Sensitivität und Spezifität. Der Laboraufwand für diese Technik ist besonders hoch und steht daher nur in wenigen Laboren zur Verfügung.

Serum, Liquor oder Liquor-Serum-Paare?

Eine weltweit geäusserte Empfehlung lautet, zur Antikörpersuche Liquor-Serum-Paare einzusenden. Dieses Vorgehen bietet die höchste Sensitivität, denn manche Antikörper lassen sich teilweise nur im Serum, andere mitunter nur im Liquor nachweisen. NMDAR-Antikörper wurden in einer grossen Serie bei 14 Prozent der Fälle

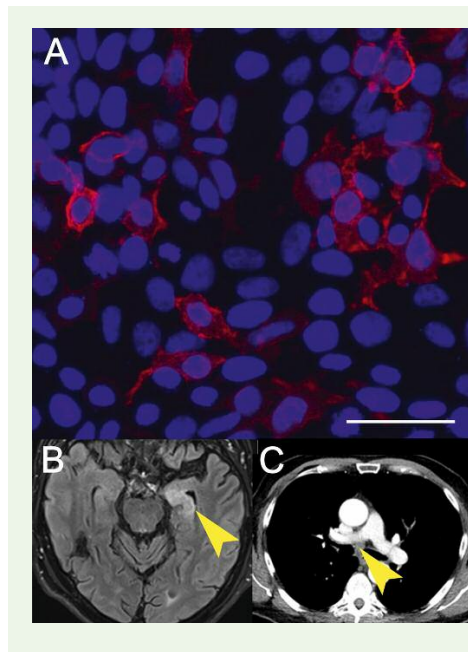
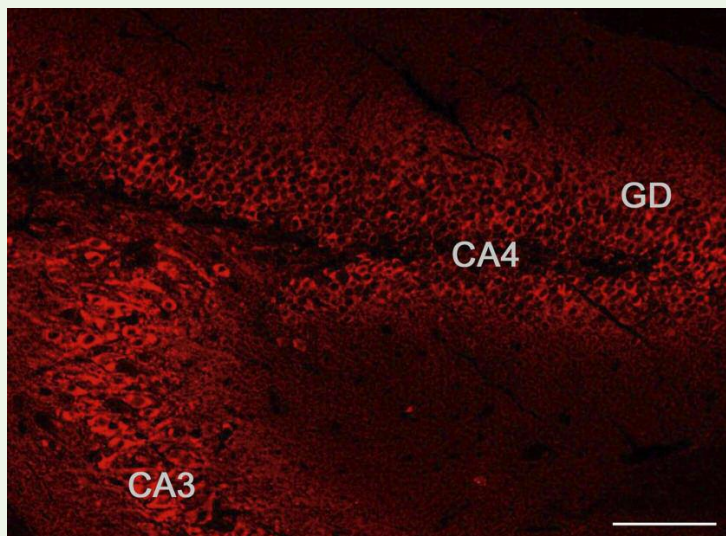


Abbildung 1: Fallbeispiel 1

73-jähriger Patient mit paraneoplastischer limbischer Enzephalitis und Antikörpern gegen den γ -Amino-Buttersäure-B-Rezeptor (GABA_BR) im Serum (Titer 1:1280) und im Liquor (1:128), spezifischer Antikörperindex 38, also starke intrathekale Synthese ($n < 4$). Passend hierzu waren im Liquor autochthone oligoklonale Banden nachweisbar (jedoch keine Pleozytose). GABA_BR-Antikörper sind in etwa zwei Dritteln der Fälle mit Tumoren assoziiert, meist mit kleinzelligen Bronchialkarzinomen. (A) Serumprobe im zellbasierten Assay: Die spezifischen Antikörper (rot) binden an mit GABA_BR transfizierten HEK-Zellen (Kerngegenfärbung blau). Balken: 25 μ m. (B) Hirn-MRT, axiale Fluid-Attenuated-Inversion-Recovery-(FLAIR)-Sequenz: Signalanhebung des linken Hippocampus (Pfeilspitze) als Zeichen der limbischen Enzephalitis. (C) Thorax-CT: Tumor (Pfeilspitze), der sich bioptisch als kleinzelliges Bronchialkarzinom erwies.

Abbildung 2: Fallbeispiel 2



75-jähriger Patient mit limbischer Enzephalitis und Antikörpern gegen Adenylatkinase 5. Das Standard-Panel zellbasierter Assays war negativ. Sowohl im Serum als auch im Liquor waren Antikörper vorhanden, deren Bindung an Maushirn der von Antikörpern gegen Adenylatkinase 5 entsprach (14). Gezeigt ist hier ein charakteristischer Ausschnitt des Maushirnhippocampus. CA = Cornu ammonis. GD = Gyrus dentatus. Balken: 50 μ m. Die Testung mit einem zellbasierten In-house-Assay durch J. Dalmau, Barcelona, bestätigte diese Diagnose.

nur im Liquor gefunden (6), umgekehrt liessen sich in einer Serie von Fällen mit LGI1-Antikörpern bei 47 Prozent der Patienten diese mittels zellbasiertem Assay nur im Serum nachweisen (7).

Labordiagnostik durch Antikörperpanels

Inzwischen ist eine grosse Zahl von Antigenen bekannt. Viele von ihnen können inzwischen durch kommerziell erhältliche Paneldiagnostik mit fixierten HEK-Zellen auf

sogenannten Biochips und auf Immunblots mit mehreren Auftragsstellen gleichzeitig einer zu testenden Probe angeboten werden. Die Diagnostik ist damit weiterhin aufwendig, weil menschliche Untersucher bei den zellbasierten Assays jedes einzelne Feld am Mikroskop auf eine Bindung beurteilen müssen; zugleich ist der Zeitaufwand geringer und die Kosteneffizienz durch Rabattierung besser als bei Einzeltestungen. Der Kliniker muss nicht mehr gezielt einzelne Antikörperreaktivitäten zur Testung anfordern, sondern kann mit einer Paneluntersuchung das ganze Spektrum möglicher Reaktivität auf einmal abdecken (5, 8).

Titerbestimmungen

Titer erlauben es, die Konzentration von Antikörpern im untersuchten Material semiquantitativ abzuschätzen. Während sich Titerbestimmungen bei onkoneuralen Antikörpern als klinisch nicht hilfreich erwiesen haben, können sie bei Oberflächenantikörpern als Verlaufsparemeter zum Therapiemonitoring mit herangezogen werden. Bei NMDAR-Antikörpern scheint ein Abfall des Liquortiters um mindestens zwei Titerstufen einen positiven Verlauf anzukündigen (6). Bei anderen Antikörpern stehen Langzeitstudien noch aus.

Aktuelle Herausforderungen

Während die Testempfindlichkeit gut ist, gilt dies mitunter weniger für die Spezifität der Befundinterpretation. Hier sind die Labore gefordert: Die isolierte Diagnostik auf onkoneurale Antikörper mit einem (einfach abzulesenden) Immunoblot ohne den international geforderten Bestätigungstest in Form eines gewebebasierten Assays führt nicht selten zu falschpositiven Befunden, was zu hoher Besorgnis bezüglich eines zugrunde liegenden Tumors in der Klinik führt (9). Der Bericht erhöhter VGKC-(spannungsabhängiger Kaliumkanal-)Komplex-Antikörper ohne Nachweis von Antikörpern gegen Leucine-rich Glioma Inactivated Protein 1 (LGI1) oder Contactin-assoziiertes Protein-2 (CASPR2) ohne den erklärenden Kommentar, dass ein solcher Befund klinisch irrelevant ist, führt zu Überdiagnosen be-

Kasten 1: «Hochwertige Antikörper»

Hochwertige Antikörper weisen eine gute Syndromspezifität auf und sind immuntherapeutisch behandelbar.

Antigen	Syndromspezifität	Bestätigt	Immunologische Therapierbarkeit
NMDAR i.L.	polyphasische Enzephalopathie	+	+
LGI1	LE FBDS	+	+
CASPR2	LE Ataxie hyperkinetische Bew.störung	+	+
MOG	Enzephalomyelitis	+	+
AMPAR	LE diffuse Enzephalopathie Psychose	+	+/-
GABA _B R	LE Ataxie	+	+/-
DPPX	Triade: Durchfall/Gew.verlust, kogn. Störung, Hyperexzitabilität Hirnstamm-, KH-Symptome	+	+/-

Abkürzungen:
AMPAR = α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionsäure-Rezeptor, Bew.störung = Bewegungsstörung, CASPR2 = Contactin-assoziiertes Protein-2, FBDS = faziobranchiale dystone Anfälle, GABA_BR = γ -Aminobuttersäure-B-Rezeptor, Gew.verlust = Gewichtsverlust, i.L. = im Liquor, KH = Kleinhirn, kogn. = kognitiv, LE = limbische Enzephalitis, LGI1 = Leucine-rich Glioma Inactivated Protein 1, MOG = Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein, NMDAR = N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor

Kasten 2: «Graue Antikörper»

Graue Antikörper sprechen entweder schlecht auf Immuntherapie an, ihre Syndromspezifität ist noch nicht bestätigt ist oder sie sind syndromal unspezifisch.

Antigen	Syndromspezifität	Bestätigt	Immunologische Therapierbarkeit
Spezifisch, aber schlecht therapierbar			
Onkoneural	je nach Antikörper	+	-
GAD65	LE chronische fokale Epilepsie SMS/PERM Ataxie	+	-
IgLON 5	komplex, neurodegenerativ	+	-
Adenylatkinase 5	LE	+	-
Datenlage unzureichend			
Glycin-Rezeptor	SMS, PERM Ataxie LE	-	+?
mGluR5	komplex neuropsychiatrisch	-	+/-
GABA _A R (α 1/ β 3)	Status epilepticus multifokale entz. Läsionen	-	+/-
Neurexin 3 α	LE	-	?
Unspezifisch			
VGKC-K., nicht LGI1, CASPR2	-	-	-
NMDAR nur i.S.	-	-	-
CASPR2 < 1:128 i.S.	– (jedoch: schmerzhafte PNP, Morvan)	-	-

Abkürzungen:
CASPR2 = Contactin-assoziiertes Protein-2, entz. = entzündlich, GABA_AR = γ -Aminobuttersäure-B-Rezeptor, GAD = Glutamatdecarboxylase, i.S. = im Serum, IgLON5 = IgLON family member 5, LE = limbische Enzephalitis, LGI1 = Leucine-rich Glioma Inactivated Protein 1, mGluR5 = metabotroper Glutamat-Rezeptor 5, Morvan = Morvan-Syndrom, NMDAR = N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor, PNP = Polyneuropathie, SMS/PERM = Stiff-man-Syndrom/progrediente Enzephalomyelitis mit Rigidität und Myoklonien, VGKC-K. = VGKC-(spannungsabhängiger Kaliumkanal-)Komplex

züglich autoimmuner Enzephalitiden und Übertherapien (10). Die Mitteilung von Antikörpern ohne gesicherte klinische Bedeutung, das heisst ohne Syndromspezifität, hat nicht selten den gleichen Effekt. Manchmal verdrängen dann die Antikörper sogar offensichtliche klinische Diagnosen. Selbst der niedrigtiterige Nachweis (typischerweise < 1:80) «hochwertiger Antikörper» nur im Serum, nicht im Liquor, kann zu falschpositiven Diagnosen führen (11). Non-Immunglobulin G-(IgG-)Antikörper (also Antikörper der Subklassen IgA oder IgM) haben nach heutigem Kenntnisstand keine klinische Relevanz und müssen klar von IgG-Antikörpern abgegrenzt werden (12). Alle diese Befundsituationen verlangen nach einer sachgerechten Kommentierung durch das Labor (Kasten 1 und 2). Die Diagnostik auf neurale und oligodendrogliale Antikörper erfordert damit labormedizinische und neurologische Kompetenz.

Auch der Kliniker ist gefordert. Er muss die Antikörper im klinischen Kontext auf ihre Validität überprüfen. Eine gültige Diagnose einer Autoimmunenzephalitis verlangt ein typisches Syndrom; der Antikörpernachweis komplettiert oder verfeinert die Diagnose. Ein viel zitiertes internationales Konsensuspapier hat dazu die entsprechenden diagnostischen Kriterien formuliert (5, 13).

Zusammenfassung

Wenn die Diagnostik auf neurale Antikörper sinnvoll eingesetzt, hochwertig durchgeführt und adäquat interpretiert wird, ermöglicht sie valide Diagnosen und häufig sehr erfolgreiche immunologische Therapien. ●

Korrespondenzadresse:
Prof. Christian G. Bien
Epilepsie-Zentrum Bethel
Krankenhaus Mara I
Maraweg 17–21
D-33617 Bielefeld
E-Mail: christian.bien@mara.de

Interessenkonflikte:

Christian G. Bien war als Berater von UCB (Monheim, Deutschland) tätig und erhielt Honorare für Fortbildungsvorträge von UCB (Monheim), Deditin (Hamburg, Deutschland), Biogen (Ismaning, Deutschland) und Euroimmun (Lübeck, Deutschland). Er empfängt Forschungsunterstützung von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Bonn, Deutschland – B11254/8-1, B11254/9-1) und der Gerd-Altenhof-Stiftung im Deutschen Stiftungszentrum (Essen, Deutschland).

Merkmale:

- Die Diagnose von autoimmunen und paraneoplastischen Enzephalitiden hängt wesentlich vom Nachweis neuraler und oligodendroglialer Autoantikörper ab.
- Während die Testempfindlichkeit gut ist, gilt dies mitunter weniger für die Spezifität der Befundinterpretation.
- Die Diagnostik auf neurale und oligodendrogliale Antikörper erfordert damit labormedizinische und neurologische Kompetenz.
- Auch der Kliniker ist gefordert: Er muss die Antikörper im klinischen Kontext auf ihre Validität überprüfen.

Literatur:

1. Dalmau J, Rosenfeld MR: Paraneoplastic syndromes of the CNS. *Lancet Neurol* 2008; 7: 327–340.
2. Dalmau J, Graus F: Antibody-mediated encephalitis. *New England Journal of Medicine* 2018; 378: 840–851.
3. Titulaer MJ, McCracken L et al.: Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol* 2013; 12: 157–165.
4. Brilot F, Dale RC et al.: Antibodies to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in children with inflammatory demyelinating central nervous system disease. *Ann Neurol* 2009; 66: 833–842.
5. Bien CG: Diagnosing autoimmune encephalitis based on clinical features and autoantibody findings. *Expert Rev Clin Immunol* 2019; in press.
6. Gresa-Arribas N, Titulaer MJ et al.: Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol* 2014; 13: 167–177.
7. van Sonderen A, Thijs RD et al.: Anti-LGI1 encephalitis: Clinical syndrome and long-term follow-up. *Neurology* 2016; 87: 1449–1456.
8. Stöcker W, Saschenbrecker S et al.: Autoantikörperdiagnostik in der Neurologie mittels nativer und rekombinanter Antigensubstrate. *Nervenarzt* 2013; 84: 471–476.
9. Graus F, Delattre JY et al.: Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 1135–1140.
10. van Sonderen A, Schreurs MW et al.: The relevance of VGKC positivity in the absence of LGI1 and Caspr2 antibodies. *Neurology* 2016; 86: 1692–1699.
11. Bien CG: Overinterpretation and Overtreatment of Low-Titer Antibodies Against Contactin-Associated Protein-2. *Front Immunol* 2018; 9: 703.
12. Hara M, Martinez-Hernandez E et al.: Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology* 2018; 90: e1386–e1394.
13. Graus F, Titulaer MJ et al.: A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 2016; 15: 391–404.
14. Tüzün E, Rossi JE et al.: Adenylate kinase 5 autoimmunity in treatment refractory limbic encephalitis. *J Neuroimmunol* 2007; 186: 177–180.