

Aus dem Institut für Klinische Neuroimmunologie und dem Biomedizinischen Zentrum,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktoren:

Prof. Dr. med. Reinhard Hohlfeld

Prof. Dr. med. Martin Kerschensteiner

und

der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktorin:

Prof. Dr. med. Marianne Dieterich

Multiple Sklerose:

Suszeptibilität, Triggerfaktoren und Biomarker

Kumulative Habilitationsschrift im Fach Neuroimmunologie

vorgelegt von Dr. med. Lisa Ann Gerdes (2018)

Inhaltsverzeichnis

A. Multiple Sklerose: Suszeptibilität, Triggerfaktoren und Biomarker

A.1 Einleitung

A.2 Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten

A.3 Genetische Suszeptibilität für MS

A.3.1 Identifikation von Risikogenen für MS

A.3.2 Assoziation von MS mit Risikogenen und Charakterisierung des klinischen Phänotyps

A.3.3 Klinische Relevanz der Identifikation von Risikogenen (TNFRSF1A)

A.3.4 Autoinflammatorische periodische Syndrome bei MS Patienten (FMF, CAPS)

A.3.5 Einfluss von Veränderungen der mitochondrialen DNA

A.4 Triggerfaktoren für MS

A.4.1 Regulation von Checkpoint-Genen (CTLA4)

A.4.2 Mikrobiota als Triggerfaktor

A.5 Biomarker

A.5.1 Biomarker für klinische Subtypen (MOG)

A.5.2 Biomarker für Therapiemonitoring (MxA)

A.6 Diskussion und Ausblick

A.7 Zusammenfassung

A.8 Literatur

B. Publikationsliste

A.1 Einleitung

Multiple Sklerose (MS) ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen bei jungen Erwachsenen. In Deutschland sind etwa 200.000, weltweit etwa 2,5 Mio. Menschen an MS erkrankt und Frauen sind ca. dreimal häufiger betroffen. Der Erkrankungsbeginn ist überwiegend im frühen Erwachsenenalter und trotz zunehmender effektiver Behandlungsoptionen ist MS nicht heilbar und führt meist zu persistierenden neurologischen Einschränkungen.¹ Es wird angenommen, dass MS eine chronisch entzündliche Autoimmunerkrankung ist und ähnlich wie bei anderen Autoimmunerkrankungen wird das individuelle Erkrankungsrisiko durch eine Kombination von genetischen Risikofaktoren und dem Einfluss von Umweltfaktoren bestimmt.²⁻⁴ Umfassende Analysen des gesamten menschlichen Erbgutes (*genome-wide association studies, GWAS*) konnten bislang über 200 genetische Suszeptibilitätsfaktoren (*single nucleotide polymorphisms, SNPs*) für MS identifizieren.⁵ Der stärkste genetische Risikofaktor ist das MHC-Klasse-II Allel *HLA-DRB1*1501* und dies unterstützt die Autoimmunpathogenese, da HLA-Klasse-II-Moleküle auf der Zelloberfläche Antigene binden und CD4+ T-Lymphozyten zur Antigenerkennung präsentieren. Darüber hinaus spielen die Interaktionen der HLA-Loci untereinander sowie weitere genetische Suszeptibilitätsloci für MS eine Rolle in der Immunregulation.⁶⁻⁸ Insgesamt zeigen sich jedoch geringe Effektstärken der identifizierten Risikogene und der genetische Hintergrund ist zwar relevant, aber nicht deterministisch wie auch Daten bzgl. des familiären Risikos für MS zeigen: Eineiige Zwillinge weisen zwar mit einer Konkordanzrate für MS von 25 % das höchste genetische Risiko auf, jedoch zeigt dies auch, dass andere Faktoren eine Rolle spielen müssen. Ein anderer Ansatz im Gegensatz zu den GWAS Untersuchungen mit Fokus auf das nukleäre Genom ist die Analyse des mitochondrialen Genomes. Zahlreiche Belege, wie z.B. die Assoziation mit bestimmten klinischen Phänotypen (Leber's hereditary optic neuropathy/LHON und MS) und ein maternaler "parent-of-origin-effect" weisen auf eine mögliche Rolle von mitochondrialen DNA (mtDNA) Varianten auf eine Prädisposition für MS hin.⁹⁻¹⁴

Neben den genetischen Faktoren haben Umweltfaktoren und der Lebensstil einen Einfluss auf das MS-Risiko: Hier konnten bislang Vitamin D und Sonnenlichtexposition, Rauchen, postpubertäre symptomatische Infektion mit dem Epstein Barr Virus (infektiöse Mononukleose durch EBV) sowie Adipositas in der Kindheit identifiziert werden.¹⁵⁻¹⁹ Zudem gibt es Bedingungen, die den Zeitpunkt der Erstmanifestation einer MS triggern können, wie z.B. Infekte oder Impfungen, hormonelle Veränderungen (z.B. postpartal) oder auch Medikamente, die auf das Immunsystem Einfluss nehmen, wie z.B. TNF-alpha-Blocker oder neuerdings auch sogenannte Checkpoint-Inhibitoren, die

in der Onkologie eingesetzt werden. Aktuell wird zudem ein Einfluss der gastrointestinalen Darmflora (Mikrobiota) als potentieller wichtiger Risikofaktor diskutiert.²⁰⁻²⁶ Im Gegensatz zu genetischen Risikofaktoren können Umweltfaktoren modifiziert werden und stellen daher attraktive Ziele für therapeutische und möglicherweise sogar interventionelle Anwendungen dar.

Der klinische Krankheitsverlauf der Multiplen Sklerose ist charakterisiert durch transiente Episoden von neurologischen Symptomen ("Schübe"), welche sich üblicherweise subakut über mehrere Tage entwickeln und für wenige Wochen bis Monate anhalten und sich dann entweder vollständig zurückbilden oder residuelle persistierende Einschränkungen bedingen (schubförmig-remittierende MS, "relapsing-remitting MS, RRMS"). Akute klinische Krankheitsaktivität resultiert aus inflammatorischer Aktivität im ZNS und kann häufig, aber nicht immer, mit dem paraklinischen Nachweis einer Krankheitsaktivität im MRT visualisiert werden.^{27, 28}

Jahre nach Erstmanifestation der MS mit initial schubförmig-remittierendem Verlauf tritt häufig eine Konversion in einen sekundär progredienten Verlauf (sekundär progrediente MS, SPMS) ein und dieser ist geprägt durch eine schleichende und unaufhaltsame Zunahme der neurologischen Defizite, meist charakterisiert durch eine Abnahme der Gehfähigkeit. Es wird angenommen, dass die Ursache dieses progredienten Krankheitsverlaufes eher ein neurodegenerativer Prozess ist und nicht durch eine anhaltende inflammatorische Aktivität bedingt ist.²⁹ Dies würde auch erklären, warum die Mehrheit der bei RRMS effektiven anti-inflammatorischen verlaufsmodifizierenden Therapien bei der schleichenden Verlaufsform das Fortschreiten der Erkrankung nicht positiv beeinflussen können.³⁰

Die Diagnosesicherung erfordert den Nachweis einer klinischen oder neuroradiologischen "räumlichen und zeitlichen Dissemination" des inflammatorischen Prozesses im ZNS. Zum Zeitpunkt der klinischen Erstmanifestation zeigen sich häufig kernspintomografisch multiple vorbestehende klinisch inapparente Entzündungsherde im Gehirn oder Rückenmark, so dass die Bedingung einer räumlichen Dissemination bei einem ersten Schub häufig erfüllt wird. Der Nachweis einer zeitlichen Dissemination kann entweder durch die radiologische Detektion neuer asymptomatischer Läsionen in Verlaufs-MRT-Untersuchungen erfolgen oder ist definiert durch einen zweiten klinischen Schub. Selten werden inzidentell subklinische MRT-Läsionen bei klinisch asymptomatischen Personen nachgewiesen, die aufgrund anderer Indikationen, wie z.B. Kopfschmerzen oder einem Schädel-Hirn-Trauma, kernspintomografisch untersucht werden. Dieses sogenannte "Radiologisch isolierte Syndrom" (RIS) wird als Prodromalstadium einer MS gewertet, welches in eine klinisch manifeste

MS konvertieren kann.³¹⁻³⁵ Zahlreiche Aspekte der inflammatorischen Phase bei MS sind hinreichend gut verstanden, jedoch gibt es wenige Kenntnisse über die initialen Triggerfaktoren der MS.³⁶

Die Diagnosestellung der Multiplen Sklerose ist komplex und erfordert die Berücksichtigung verschiedener Informationen, wie Anamnese, neurologische Untersuchung sowie zusätzlich erhobener Befunde aus MRT, Liquor und ggf. elektrophysiologischen Untersuchungen. Ein weiterer Aspekt ist der weitest gehende Ausschluss von relevanten Differentialdiagnosen. In den letzten Jahren hat sich jedoch zusätzlich herausgestellt, dass initial beschriebene Sonderformen der Multiplen Sklerose anhand von spezifischen Biomarkern und der im Verlauf detaillierten Erhebung der hiermit assoziierten klinischen Charakteristika als neue Krankheitsentitäten definiert wurden. Wichtigstes Beispiel sind die Neuromyelitis optica Spektrum Erkrankungen (NMOSD), die sich durch den serologischen Nachweis der Aquaporin-4-Antikörper sowie prognostischen und therapeutischen Besonderheiten klar von MS unterscheiden.

Die therapeutischen Optionen den Verlauf einer MS abzumildern sind zahlreich und die Auswahl eines der zugelassenen Präparate hängt von verschiedenen Faktoren ab. Nach Etablierung einer verlaufsmodifizierenden Therapie ist eine sorgfältige Beurteilung der Therapieeffektivität notwendig, da bei unzureichendem Therapieeffekt oder Therapieversagen eine Umstellung der Therapie erfolgen sollte. Die Evaluation der klinischen und paraklinischen Krankheitsaktivität ist anspruchsvoll und beruht überwiegend auf klinischen und kernspintomografischen Verlaufskontrollen. Ziel ist es jedoch zusätzliche praktikable und valide Biomarker zu etablieren, die sich zum sensitiven Therapiemonitoring eignen.

A.2 Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten

Die Zielsetzungen der für die Habilitation relevanten Originalarbeiten haben die folgenden Schwerpunkte:

- ⇒ Genetische Suszeptibilität:
 - Identifikation von neuen genetischen Risikofaktoren für MS sowie die Assoziation und Charakterisierung von genetischen Varianten mit einem klinischen Phänotyp
- ⇒ Triggerfaktoren:
 - Detektion von neuen immunregulatorischen Mechanismen (Checkpoint-Inhibitoren) sowie Evaluation der Rolle der Darmflora (humane Mikrobiota)
- ⇒ Biomarker:
 - Evaluation und Validierung von neuen Biomarkern für die Diagnose von Subtypen sowie zum Therapiemonitoring

A.3 Genetische Suszeptibilität

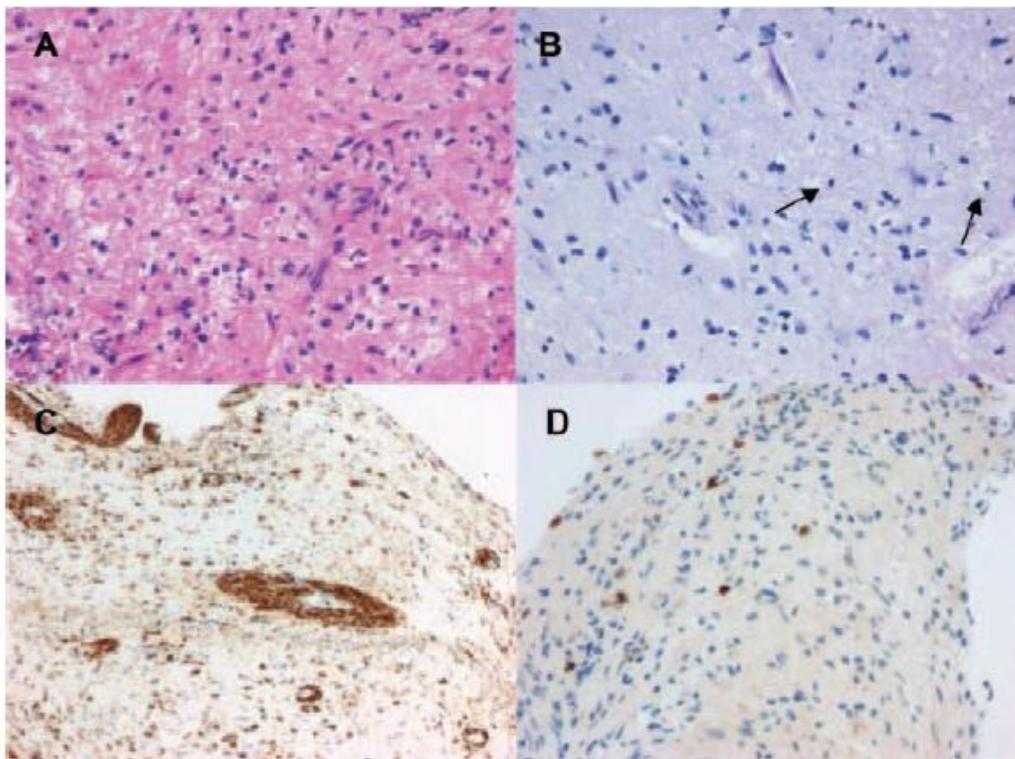
A.3.1 Identifikation von Risikogenen für MS (GWAS-Kooperationen)

In nationalen und internationalen Kooperationen mit unserer Beteiligung („International Multiple Sclerosis Genetic Consortium“) konnten anhand umfassender Untersuchungen des gesamten Genoms (genome wide association studies, GWAS) bei großen Kohorten von gesunden und MS-Erkrankten neue Suszeptibilitätsgene für MS identifiziert werden.³⁷⁻⁴² Wie bei anderen komplexen Autoimmunerkrankungen zielt der Nachweis der Assoziation von Genloci mit einer Erkrankung auf eine bessere Beurteilbarkeit der individuellen Suszeptibilität sowie ein genaueres Verständnis der Pathogenese. In den bislang erfolgten genetischen Studien wurden jedoch überwiegend multiple in der Normalbevölkerung vorkommende Genvarianten (common variants) als Risikogene identifiziert und die biologischen Effekte zahlreicher Suszeptibilitätsgene sind nicht hinreichend verstanden. In Zukunft adressieren daher genetische Analysen zunehmend die Rolle von seltenen immunologisch relevanten Risikogenen sowie die Interaktionen mit Umweltfaktoren. Zudem muss die Aussagekraft eines individuellen Risikoscores auf die Entwicklung einer MS validiert werden sowie der Einfluss von einzelnen oder der Kombination und Interaktion von speziellen Risikogenen auf den klinischen Phänotyp evaluiert werden.

A.3.2 Assoziation von MS mit Risikogenen und Charakterisierung des klinischen Phänotyps

Anhand eigener Untersuchungen wurde die klinische Relevanz einzelner Suszeptibilitätsloci bereits vor Identifikation als Risikogene im Rahmen der GWAS-Studien von uns aufgezeigt.

Wir konnten den ersten Fall einer Patientin mit einem besonders schweren MS Verlauf und neuropathologischer Diagnosesicherung einer MS vom Typ II identifizieren mit zusätzlichem molekulargenetischem Nachweis einer heterozygoten R92Q-Mutation auf Exon 4 des *TNFRSF1A*-Gen (MIM 191190, kodiert den p55-Rezeptor für TNF-alpha, Chromosom 12).⁴³



(A) Hematoxylin & eosin staining ($\times 200$) revealed infiltrating foamy macrophages, scattered lymphocytes, and reactive astrocytes. (B) The LFB-PAS staining ($\times 200$) showed complete demyelination. Scattered foamy macrophages contained either few PAS-positive myelin deposits or empty vacuoles (arrows). (C) The pan-macrophage marker Ki-M1P ($\times 100$) detected scattered diffuse foamy macrophages and activated microglia cells as well as perivascular macrophage cuffs. (D) Scattered CD8-positive cytotoxic T cells ($\times 100$) were identified within the lesion.

Abb. 1 aus Hoffmann LA et al, Neurology 2008: Neurohistopathologische Diagnose einer inaktiven demyelinisierenden inflammatorischen Läsion der weissen Substanz in den Basalganglien bei einer Patientin mit gesicherter *TNFRSF1A* R92Q-Mutation und einem MS ähnlichen demyelinisierendem Syndrom.

A.3.3 Klinische Relevanz der Identifikation von Risikogenen

In einer weiteren Fallserie konnten wir bei 21 MS Patienten mit R92Q-Mutationen im *TNFRSF1A*-Gen den Phänotyp genauer charakterisieren.⁴⁴ Interessanterweise konnte bei 9/21 Patienten zusätzlich HLA-DR15 nachgewiesen werden. Alle Patienten präsentierten neben der MS zusätzliche Symptome, welche auf eine klinische Manifestation eines Tumornekrosefaktor-Rezeptor1-assoziierten autoinflammatorischen periodischen Syndromes (TRAPS) hinwiesen. Diese Beschwerden bestanden hauptsächlich aus Myalgien Arthralgien, Kopfschmerzen, ausgeprägter Fatigue sowie Hauterythemen. Die meisten Patienten wiesen darüber hinaus ausgeprägte systemische Nebenwirkungen unter immunmodulatorischer verlaufsmodifizierender Therapie auf.

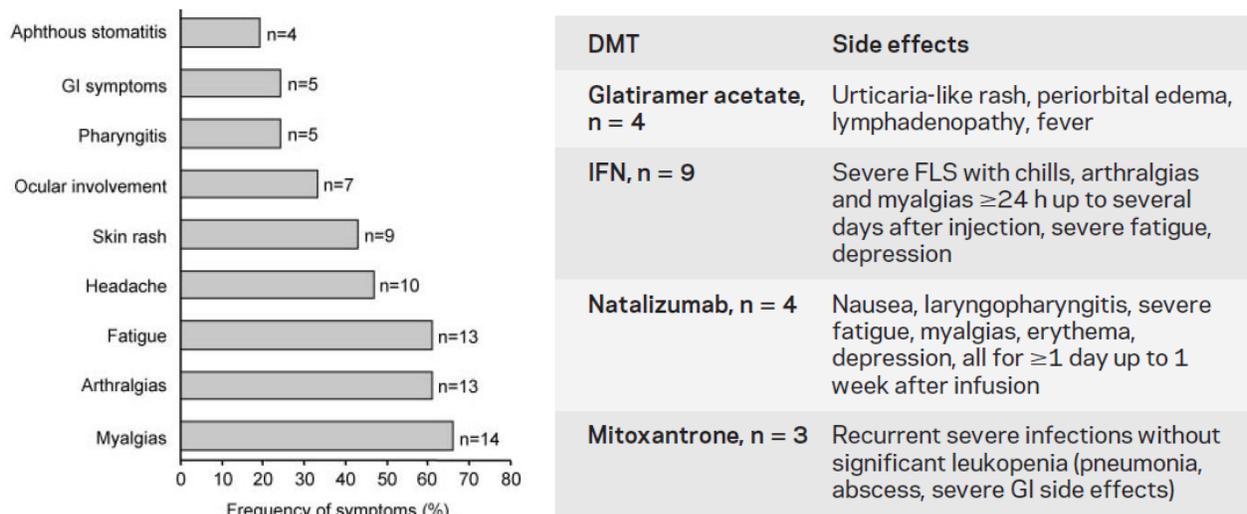


Abb. 2 aus Kümpfel T, Gerdes LA et al, Neurology 2008: Links: Häufigkeit von klinischen TRAPS-Symptomen in der untersuchten Kohorte von MS-Patienten mit identifizierter R92Q-Mutation. Rechts: Häufigkeit von unerwünschten Nebenwirkungen unter verlaufsmodifizierender Therapie in der untersuchten Kohorte von MS-Patienten mit identifizierter R92Q-Mutation.

In einer folgenden prospektiven Kohortenstudie an >100 MS Patienten (Manuskript in Vorbereitung) konnten wir diese Beobachtung, dass bei Mutationsträgern im *TNFRSF1A*-Gen eine besonders hohe Nebenwirkungsrate unter Therapie mit den für MS zugelassenen immunmodulatorischen Medikamenten (Interferon-beta, Glatirameracetat) besteht, validieren. Zudem zeigte sich in einer

ausführlichen Erhebung der im gesamten Krankheitsverlauf eingesetzten Therapien eine erhöhte Rate die Medikamente abzusetzen bzw. die Notwendigkeit von häufigen Therapieumstellungen. Diese Beobachtungen und Erfahrungen haben direkten Einfluss in unsere klinische Praxis gefunden mit hoher Relevanz im Hinblick auf Therapieentscheidungen und Umgang mit Nebenwirkungen im Sinne einer individualisierten Medizin.

Im Rahmen unserer neuroimmunologischen Spezialambulanz konnten wir darüber hinaus drei weitere Familien mit einer *TNFRSF1A* D12E Substitution und TRAPS Symptomen identifizieren und bei 4 Fällen zeigte sich zudem eine Assoziation mit MS und rheumatoider Arthritis.⁴⁵

A.3.4 Autoinflammatorische periodische Syndrome bei MS Patienten und Patienten mit inflammatorischen Erkrankungen des ZNS (FMF, CAPS)

Ein weiteres autoinflammatorisches periodisches Syndrom ist das hereditäre Familiäre Mittelmeerfieber (FMF) mit Mutationen im *MEFV*-Gen, welches klinisch durch eine rezidivierende fieberhafte Polyserositis charakterisiert ist. Aus unserer neuroimmunologischen Spezialambulanz wurde eine Gruppe 1 mit 157 MS Patienten selektiert und auf Mutationen im Exon 2, 3 und 10 im *MEFV*-Gen untersucht. Als Kontrollgruppen wurden 260 MS Patienten (Gruppe 2) und 400 kaukasische Kontrollen (Gruppe 3) für die Pysinmutationen mit niedriger Penetranz E148Q und K695R untersucht. In Gruppe 1 konnte bei 12% eine Mutation im *MEFV*-Gen detektiert werden und bei der Mehrheit der Patienten bestanden klinische Symptome eines familiären Mittelmeerfiebers. Interessanterweise konnten wir in 3 Fällen weitere MS-Erkrankte Familienmitglieder identifizieren und die molekulargenetische Testung zeigte, dass auch diese Träger einer *MEFV*-Mutation waren, welches Hinweise auf eine erhöhte genetische Suszeptibilität gibt. In den anderen Gruppen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede der Mutationshäufigkeiten, jedoch zeigten sich die Mutationen unerwartet häufig in einer deutschen Population.⁴⁶

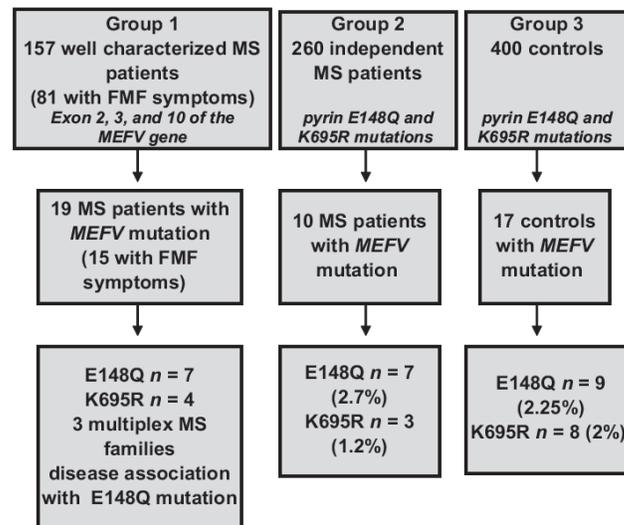


Abb. 3 aus Kümpfel T, Gerdes LA et al, Multiple Sclerosis 2012: Studienüberblick mit Darstellung der getesteten Probanden und Häufigkeit des Nachweises der mit FMF assoziierten Genmutationen im MEFV-Gen.

In einer weiteren Kohorte von 108 Patienten aus unserer neuroimmunologischen Spezialambulanz identifizierten wir 17 Patienten mit low-penetrance V198M- oder Q703K-Mutationen im *NLRP3*-Gen, welche mit der klinischen Manifestation eines Cryoporin-assoziiertes-periodisches Syndrom (CAPS) assoziiert sind. Klinisch manifestierten sich häufig bei diesen Patienten schwere Kopfschmerzsyndrome und Migräne. Bei ca. der Hälfte der Patienten wurde zusätzlich eine MS diagnostiziert, wohingegen bei den restlichen Patienten der klinische Phänotyp durch teilweise rezidivierende Hinnervenausfälle unklarer Ätiologie imponierte.⁴⁷

A.3.5 Assoziation von mitochondrialen DNA-Varianten mit MS

Wie in der Einleitung beschrieben wurde das mitochondriale Genom bislang nur unzureichend analysiert. Zum besseren Verständnis werden im Folgenden wenige Grundprinzipien der mitochondrialen DNA und deren Vererbung erläutert. Prinzipiell enthalten alle nukleären Zellen eine variable Anzahl von Mitochondrien und jedes einzelne Mitochondrium trägt wiederum eine variable Anzahl von Kopien der zirkulären mtDNA. Der Begriff Homoplasmie bedeutet, dass >99% identische Kopien der mtDNA in allen Zellen vorliegen, wohingegen Heteroplasmie das Vorliegen einer Mischung aus verschiedenen mitochondrialen Genotypen beschreibt. Bekanntermassen wird das mitochondriale Genom ausschliesslich maternal über die weibliche Eizelle vererbt. Wenige Tage nach der Befruchtung der Eizelle, welche eine Mischung aus Wildtyp und mutierter mtDNA enthält,

kommt es bei einer Schwangerschaft mit eineiigen Zwillingen zur Teilung der Eizelle und die Mitochondrien werden zufällig und ungleichmäßig auf die zwei Hälften verteilt. Danach kommt es zu einer raschen Zellteilung und Replikation mit einer Zunahme der mutierten mtDNA-Moleküle, welche bei einem Zwilling möglicherweise eine Krankheitsmanifestation bedingen kann, während der andere Zwilling gesund bleibt.

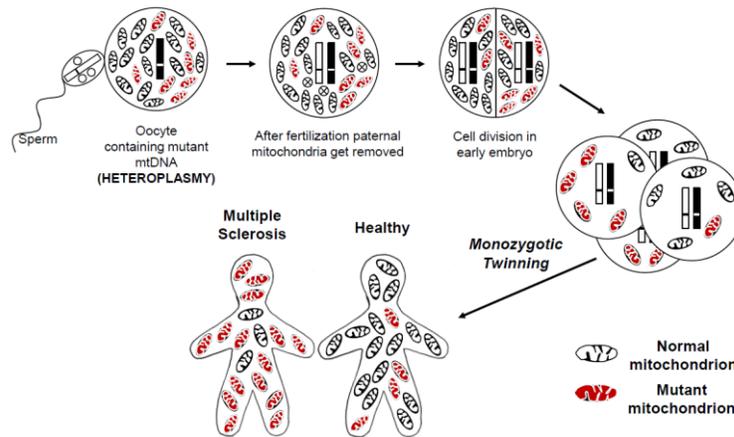


Abb. 4: Schematische Darstellung von Heteroplasmie der mtDNA bei monozygoten Zwillingen.

Wir haben diese Hypothese an unserer großen Kohorte von 49 eineiigen Zwillingspaaren mit klinischer Diskordanz für MS geprüft und mittels umfassender Sequenzierung de novo mtDNA Varianten, Heteroplasmiegrade sowie die mtDNA Kopienanzahl untersucht und innerhalb der Zwillinge verglichen.

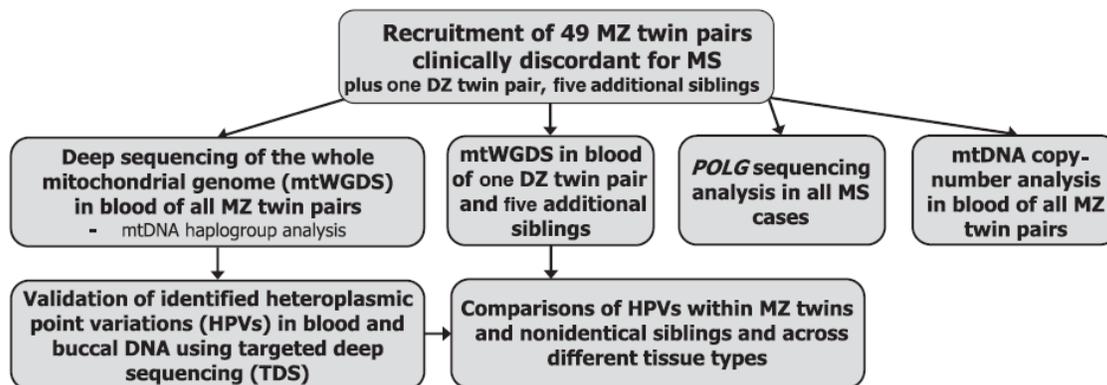
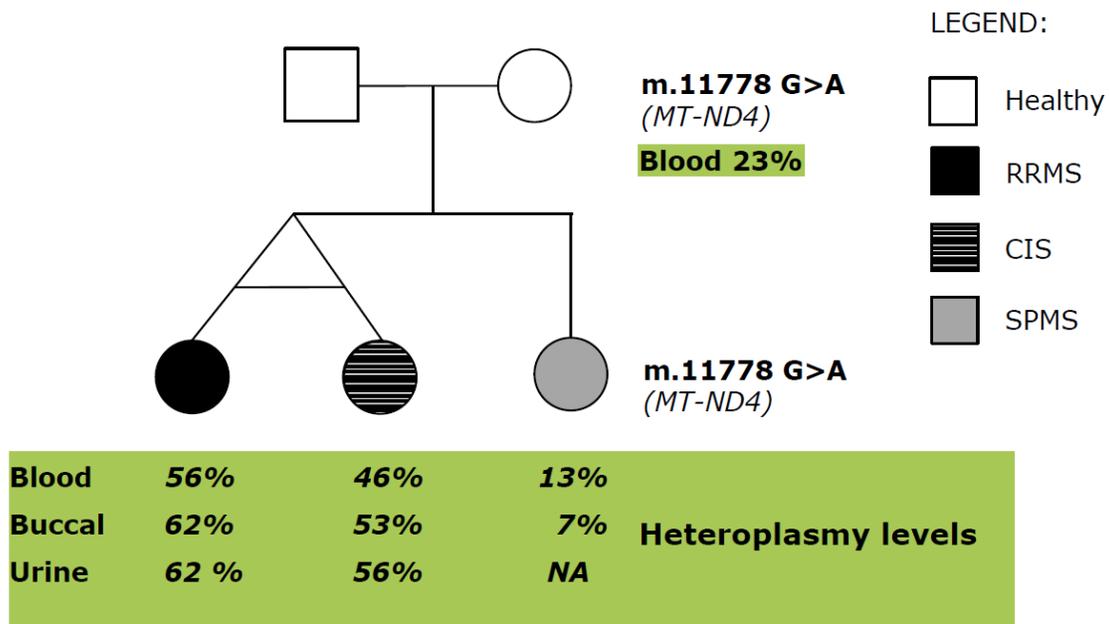


Abb. 5 aus Souren NY, Gerdes LA et al, Human Mutation 2016: Schematischer Überblick über das experimentelle Studiendesign der Analyse der mitochondrialen DNA in der Zwillingkohorte.

Zusammengefasst konnten wir 25 heteroplasmische Varianten mit potentiell pathogenen Eigenschaften bei 18 Zwillingspaaren identifizieren. Alle Varianten waren spezifisch für 1 Paar und wiesen geringe und/oder ähnliche Heteroplasmiegrade innerhalb eines Paares auf. Darüber hinaus konnten wir 1 pathogene LHON Mutation (m.11778G>A) bei beiden Zwillingen eines Paares detektieren und anhand ausführlicher Charakterisierung mittels MRT und Liquorpunktion sowie der klinischen Anamnese mit einer unklaren Episode mit Hemihypästhesie vor 10 Jahren wurde auch bei dem aktuell klinisch gesunden Zwilling die Diagnose eines Klinisch isolierten Syndromes gestellt.



MT-ND4: NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4

Abb. 6: Molekulargenetischer Nachweis einer pathogenen LHON-Mutation bei einem Zwillingsspaar sowie einer weiteren an SPMS erkrankten Schwester. Detaillierte Untersuchungen mittels MRT und Liquoruntersuchungen bei der klinisch gesunden Zwillingsschwester zeigten H.a. subklinische Krankheitsaktivität.

Die Analyse der mtDNA de novo Varianten, mtDNA-Deletionen, Kopienanzahl oder Heteroplasmiegrade zeigte ebenfalls keine relevanten Unterschiede, die die unterschiedliche Krankheitsmanifestation von MS bei eineiigen Zwillingen erklären kann. Zusammengefasst konnten wir mit dieser Studie eine wesentliche Rolle der mtDNA in der MS Pathogenese ausschliessen.⁴⁸

A.4 Triggerfaktoren

A.4.1 Regulation von Checkpoint-Genen (CTLA4)

Anhand eines klinisch, neuroradiologisch, histopathologisch und immunologisch detailliert aufgearbeiteten Falles konnten wir die bedeutende Rolle eines „checkpoint“ Immunregulatorgens (CTLA-4, cytotoxic-T-lymphocyte-antigen-4) als Trigger in der Manifestation und auch Exazerbation der MS darlegen und somit weitere Evidenz für eine autoimmune Ätiologie liefern.⁴⁹ In diesem Fall zeigte sich bei einem jungen Patienten initial eine sehr gering ausgeprägte kernspintomografische Krankheitsaktivität (Radiologisch Isoliertes Syndrom). Aufgrund eines metastasierten Melanoms erhielt der Patient im Verlauf zweimalig eine Therapie mit dem CTLA4-blockierenden Antikörper Ipilimumab, welche jeweils in unmittelbarem zeitlichen Zusammenhang zunächst die Transition in eine klinische Manifestation einer MS sowie dann einen zweiten Schub triggerte und zudem von einer massiven Zunahme der paraklinischen Krankheitsaktivität im MRT begleitet wurde.

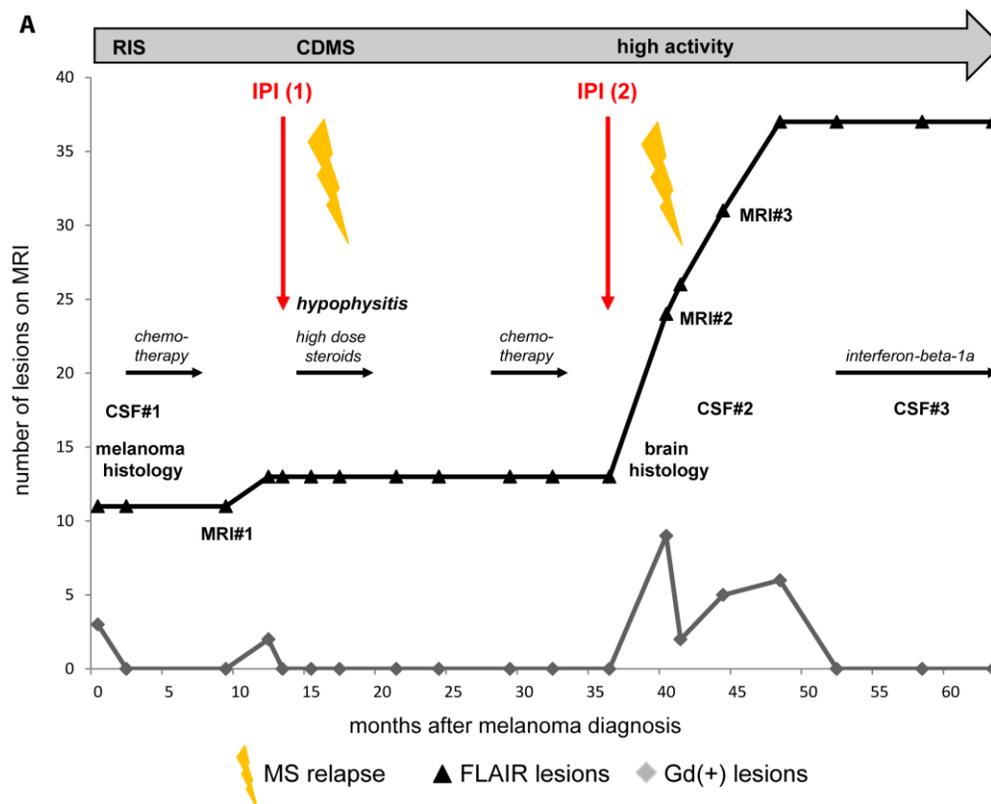


Abb. 7 aus Gerdes LA et. al, Annals of Neurology 2016: Darstellung des klinischen Verlaufes sowie der Krankheitsaktivität im MRT unter Therapie mit Ipilimumab (IPI).

Anhand einer Hirnbiopsie wurde eine aktive T-Zelldominierte MS bestätigt. Mittels quantitativer Sequenzierung der Gene des T-Zellrezeptors konnten die oligoklonalen CD4(+) und CD8(+) T-Zellrepertoires der tumorinfiltrierenden T-Zellen im Primärtumor Melanom mit den T-Zellen im Liquor verglichen werden und zeigten mehrere Übereinstimmungen der expandierten autoreaktiven oligoklonalen T-Zellklone innerhalb der beiden Kompartimente.

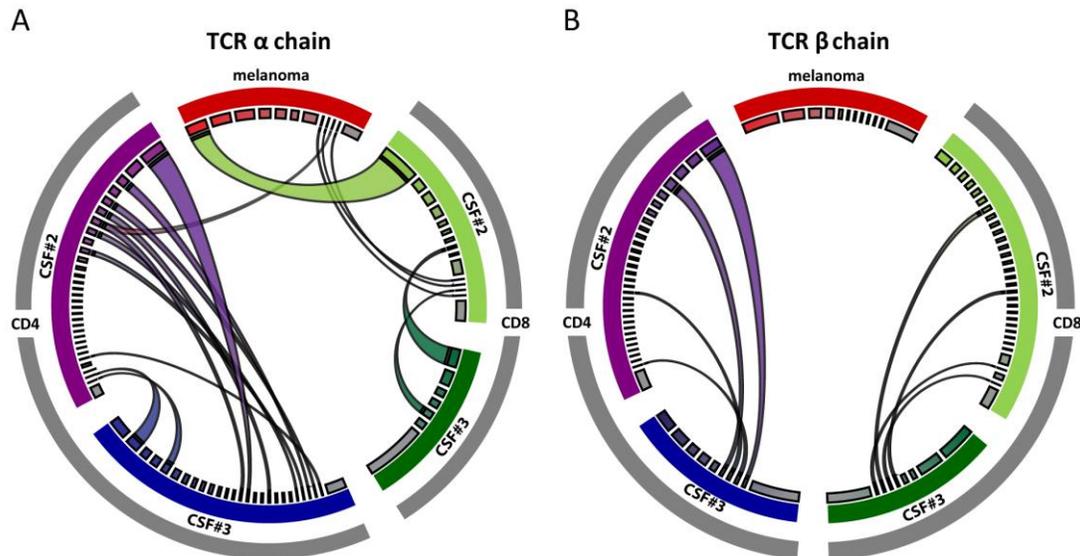


Abb. 8 aus Gerdes LA et. al, *Annals of Neurology* 2016: Synopsis der Ergebnisse des "next generation sequencing" des T-Zellrepertoires im primären Melanomgewebe und in zwei aufeinanderfolgenden Liquorproben (CSF#2 und CSF#3; Abb. 7).

Der protektive Therapieeffekt auf das metastasierte Melanom war eindrücklich und konnte eine anhaltende Remission erzielen, jedoch als Risiko manifestierte sich eine unerwünschte Autoimmunreaktion im ZNS des Patienten. Zusammenfassend unterstützen unsere Beobachtungen anhand dieses klinischen Falles die GWAS Ergebnisse, welche ko-stimulatorische und ko-inhibitorische molekulare Netzwerke der T-Zellen als genetischen Risikofaktor für MS implizieren.

A.4.2 Mikrobiota als Triggerfaktor

In den letzten Jahren wurden in einigen Studien sowie anhand von Vorarbeiten der Kollaborationspartner (Prof. Wekerle, MPI Neurobiologie) der Einfluss des gastrointestinalen Mikrobioms auf die Entstehung der EAE (*experimental autoimmune encephalomyelitis*) und MS in den Fokus des Interesses gerückt.²⁰⁻²⁶ Da es sich hierbei um einen potentiell modifizierbaren Umweltfaktor oder "Life-Style" Faktor handelt, dessen Analyse zu einem besseren Verständnis der Trigger der MS beitragen kann, mit der Hoffnung vielleicht sogar dem Ausbruch der Erkrankung präventiv oder interventionell vorbeugen zu können, erfolgte eine Translation des Forschungsansatzes in ein humanes Modell. Für dieses Ziel begannen wir 2012 mit der Rekrutierung unserer Kohorte von eineiigen Zwillingen mit Diskordanz für MS, der MS TWIN STUDY.



Abb. 9: Logo der 2012 am Institut für Klinische Neuroimmunologie initiierten nationalen Zwillingkohorte.

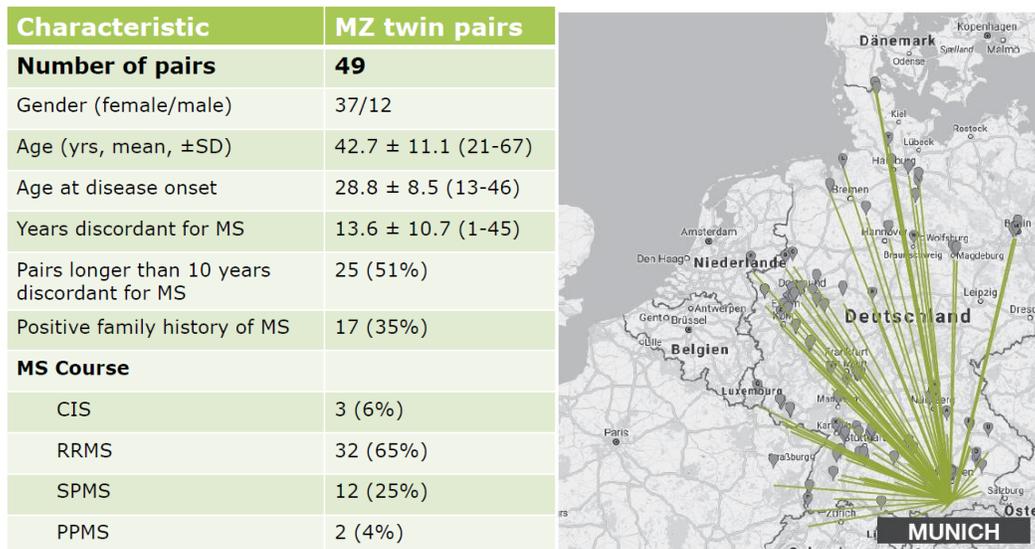


Abb. 10: Klinische Charakteristika und Herkunft der Teilnehmer der Zwillingkohorte.

Dieser Ansatz bietet den entscheidenden Vorteil, dass es sich hierbei um eine ideale "Fall-Kontroll" Studie handelt: Zum einen kann der nachgewiesene Einfluss der Wirts-DNA auf das Mikrobiom bei genetisch identischen Zwillingen vernachlässigt werden, zudem besteht innerhalb eines Zwillingspaares eine ideale Kontrolle für viele andere potentielle Störvariablen (Alter, Geschlecht, etc.). Ausschlusskriterien waren eine aktuelle oder kürzliche Behandlung mit Antibiotika, Glukokortikosteroiden oder Immunsuppressiva, zudem durfte in den 3 Monaten vor Studieneinschluss kein gastrointestinaler Infekt oder Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten vorhanden gewesen sein. Stuhlproben von 34 Zwillingspaaren unserer MS-diskordanten monozygoten Zwillingskohorte wurden auf die Zusammensetzung des Mikrobioms mittels Gensequenzierung der kodierenden DNA der 16S ribosomalen RNA untersucht sowie zur Beurteilung des genetischen Potentials und möglicher Funktionen erfolgten zusätzliche metagenomische Analysen (*metagenomics shotgun sequencing*). Gleichwohl sich in dem generellen mikrobiellen Profil keine relevanten Unterschiede nachweisen liessen, konnte eine Anreicherung von wenigen Gruppen (*taxa*) wie z.B. *Akkermansia* bei unbehandelten MS-Zwillingen detektiert werden. In einem nächsten Schritt wurde die humane Mikrobiota in ein transgenes Mausmodell mit spontaner Manifestation einer autoimmunen entzündlichen ZNS-Erkrankung transplantiert. Bemerkenswerterweise konnte die humane Darmflora des MS-erkrankten Zwillings signifikant häufiger EAE auslösen als nach Übertragung der Darmflora des gesunden Zwillingsgeschwisters.

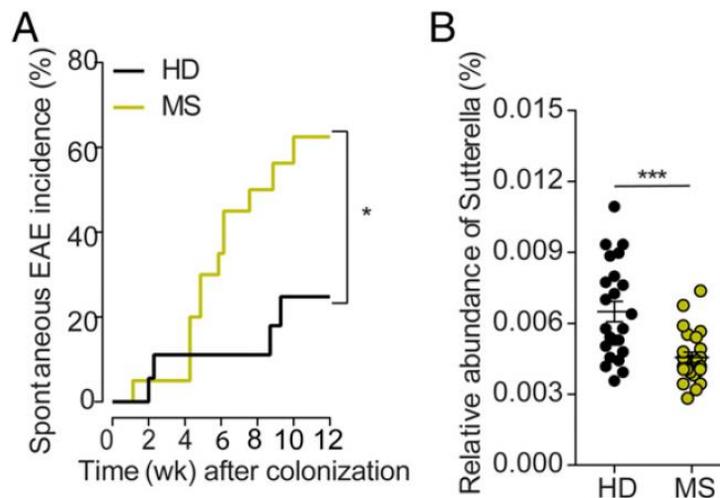


Abb. 11 aus Berer K, Gerdes LA et. al, PNAS 2017: Darstellung der erhöhten EAE-Inzidenz bei gnotobiotischen RR-SJL/J-Mäusen nach Kolonisation mit Fäkalmaterial des MS erkrankten Zwillings (A). Darstellung der relativen Menge von *Sutterella* in Stuhlproben von Mäusen nach Übertragung von Fäkalmaterial des gesunden Zwillings (B).

Untersuchungen der Mikrobiomzusammensetzung der kolonisierten Mäuse belegten eine hohe intra-individuelle Stabilität sowie auch deutliche Konstanz im Zeitverlauf (Proben wurden 2 und 6 Wochen nach Kolonisation untersucht). Unterschiede liessen sich z.B. bei einem Organismus *Sutterella* nachweisen, welcher in vitro ein protektives immunregulatorisches Profil aufwies. Auch zeigten die Immunzellen derjenigen Mäuse, die mit MS-Proben kolonisiert wurden, eine geringere Produktion von Interleukin-10 als die Immunzellen der Mäuse, die Proben des gesunden Zwillings erhalten hatten.⁵⁰ Unsere Beobachtungen und die unserer internationalen Kollaborationspartner⁵¹, welche in der Presse sowie in wichtigen Fachzeitschriften^{52, 53} hervorgehoben und als einer der Höhepunkte der Forschungsergebnisse 2017 der Max-Planck-Gesellschaft ausgezeichnet wurden, erbrachten erste Belege dafür, dass das Mikrobiom von MS Patienten Faktoren enthält, welche eine MS-ähnliche Autoimmunerkrankung in einem transgenen Mausmodell triggern können und öffnet den Weg für die Suche nach weiteren protektiven und pathogenen mikrobiellen Auslösern der MS beim Menschen.

A.5 Biomarker

A.5.1 Biomarker für klinische Subtypen (MOG)

Wie bereits in der Einleitung am Beispiel der NMOSD erläutert wird der Differenzierung von MS und deren Sonderformen anhand von Biomarkern eine besondere Bedeutung beigemessen. Ein neuerer serologischer Marker sind Antikörper gegen Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG), hier zeichnet sich ebenfalls ein neues Spektrum von MOG-AK-assoziiierter Enzephalomyelitis mit zur MS distinktem klinischem Phänotyp ab und hierzu konnten wir mit eigenen Arbeiten beitragen. In einem klinisch, kernspintomografisch, immunologisch und erstmalig neuropathologisch detailliert aufgearbeitetem Fall einer 66-jährigen Patientin konnten wir verschiedene Charakteristika der MOG-Antikörper-assoziierten Enzephalomyelitis beschreiben.⁵⁴ Einerseits konnten wir einige Übereinstimmungen mit MS (schubförmig-remittierender Verlauf, kurzstreckige Myelitis, histopathologischer Nachweis einer MS-Typ-II-Pathologie) und NMOSD (Affektion von Hirnstamm und Rückenmark, gutes Ansprechen auf Immunadsorption und B-Zelldepletierende Therapie mit Rituximab) erkennen, andererseits wurden spezifische Besonderheiten für MOG-AK assoziierte Erkrankungen identifiziert.

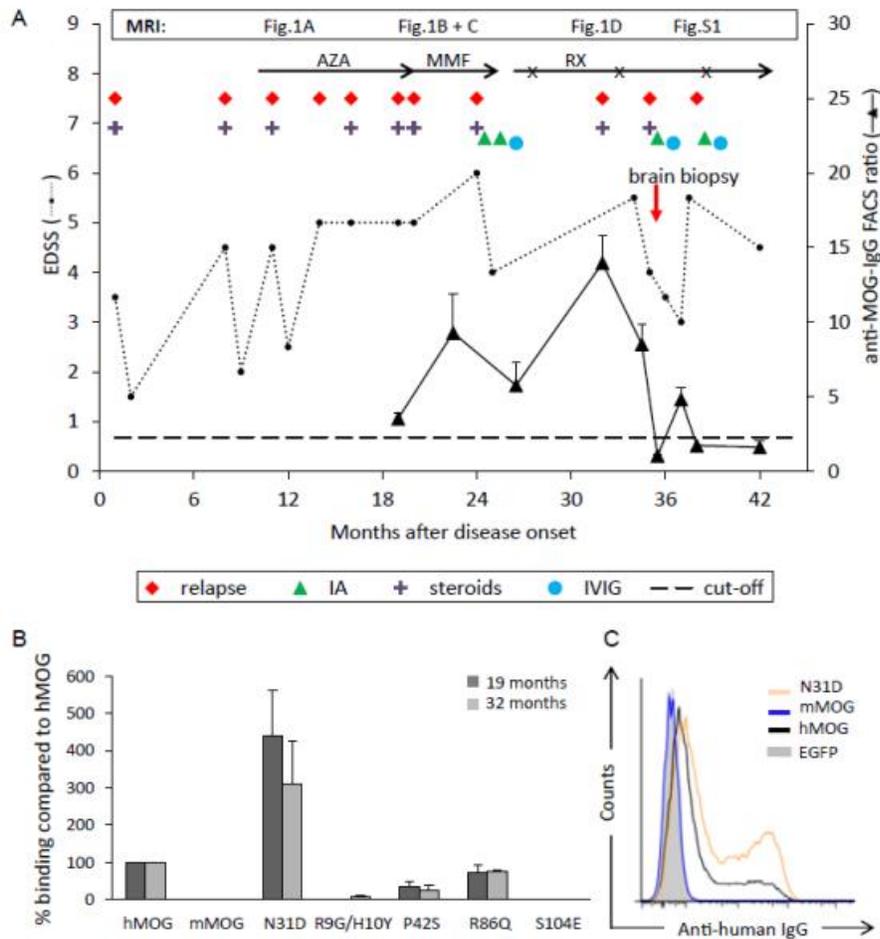


Abb 12. aus Spadaro M, Gerdes LA et al, Annals of Clinical Translational Neurology 2015: (A) Synopsis des klinischen Verlaufes, der eingesetzten immunsuppressiven Therapien sowie der Höhe der MOG-AK-IgG Positivität. (B) Serumreaktivität gegen verschiedene MOG Varianten an zwei verschiedenen Zeitpunkten im Krankheitsverlauf. (C) Reaktivität gegen humanes MOG (hMOG), unglykosiliertes MOG (N31D) sowie Maus-MOG (mMOG).

Zu erwähnen ist hier eine kernspintomografisch in engmaschigen Zeitintervallen dargestellte kaudokraniale Ausbreitung der entzündlichen Läsionen sowie ein deutlicher zonaler Aufbau der Läsionen mit scharfer Abgrenzung und ringförmiger Kontrastmittelaufnahme. Abgesehen von diesen Läsionen zeigten sich keine periventrikulären Läsionen und liquordiagnostisch zeigten sich keine oligoklonalen Banden. In der longitudinalen Bestimmung der MOG-AK erwies sich die Bestimmung der MOG-AK als valider Biomarker, da eine gute Korrelation der Höhe der Reaktivität mit der klinischen Krankheitsaktivität nachgewiesen werden konnte.

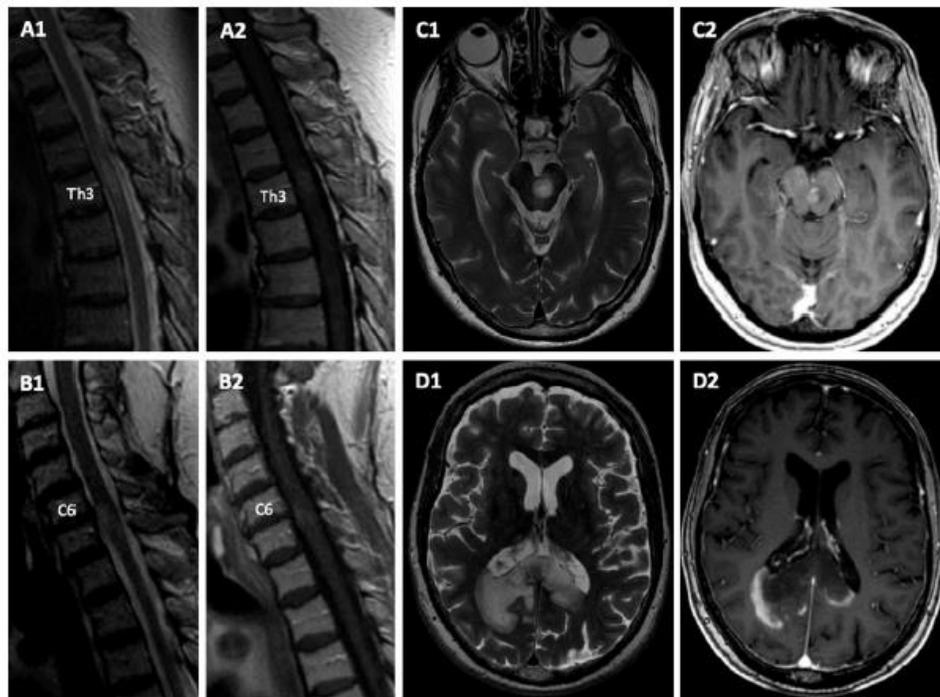


Abb 13. aus Spadaro M, Gerdes LA et al, *Annals of Clinical Translational Neurology* 2015:
Darstellung der zerebralen und spinalen MRT einer Patientin mit MOG-AK assoziierter Enzephalomyelitis.

Auf der Grundlage dieses Fallberichtes konnten wir anhand der Selektion eines spezifischen Phänotyps weitere Patienten aus unserer neuroimmunologischen Spezialambulanz mit MOG-AK identifizieren und charakterisieren.⁵⁵ MOG-AK wurden in drei verschiedenen Patientengruppen untersucht: Gruppe 1: 104 präselektierte MS-Patienten, Gruppe 2: 55 nach Alter und Geschlecht kontrollierte unselektierte MS-Patienten, Gruppe 3: 22 Patienten mit einer demyelinisierenden Erkrankung des ZNS mit erfolgter Hirnbiopsie. In Gruppe 1 konnten wir bei 5/104 Patienten MOG-AK nachweisen, in den anderen 2 Gruppen waren alle getesteten Patienten negativ für MOG-AK. MS Patienten mit positiven MOG-AK wiesen eine ausgeprägte Beteiligung von Hirnstamm und Rückenmark auf und zeigten insgesamt einen schweren Krankheitsverlauf mit einer hohen Schubfrequenz und Therapieversagen verschiedener verlaufsmodifizierender Therapien. 3 der MOG-AK positiven Patienten waren mit Plasmapherese behandelt worden und hatten ein deutliches Ansprechen gezeigt. Longitudinale Analysen über bis zu 9 Jahre demonstrierten deutliche Fluktuationen der MOG-AK-Reaktivität. Zusammenfassend konnten wir mit dieser Studie nachweisen, dass auch bei mit MS diagnostizierten Patienten in einer geringen Frequenz MOG-AK nachweisbar sind und dies mit einem besonderen klinischen Phänotyp assoziiert ist und zeigt somit die hohe klinische Relevanz der Bestimmung der MOG-AK im klinischen Alltag.

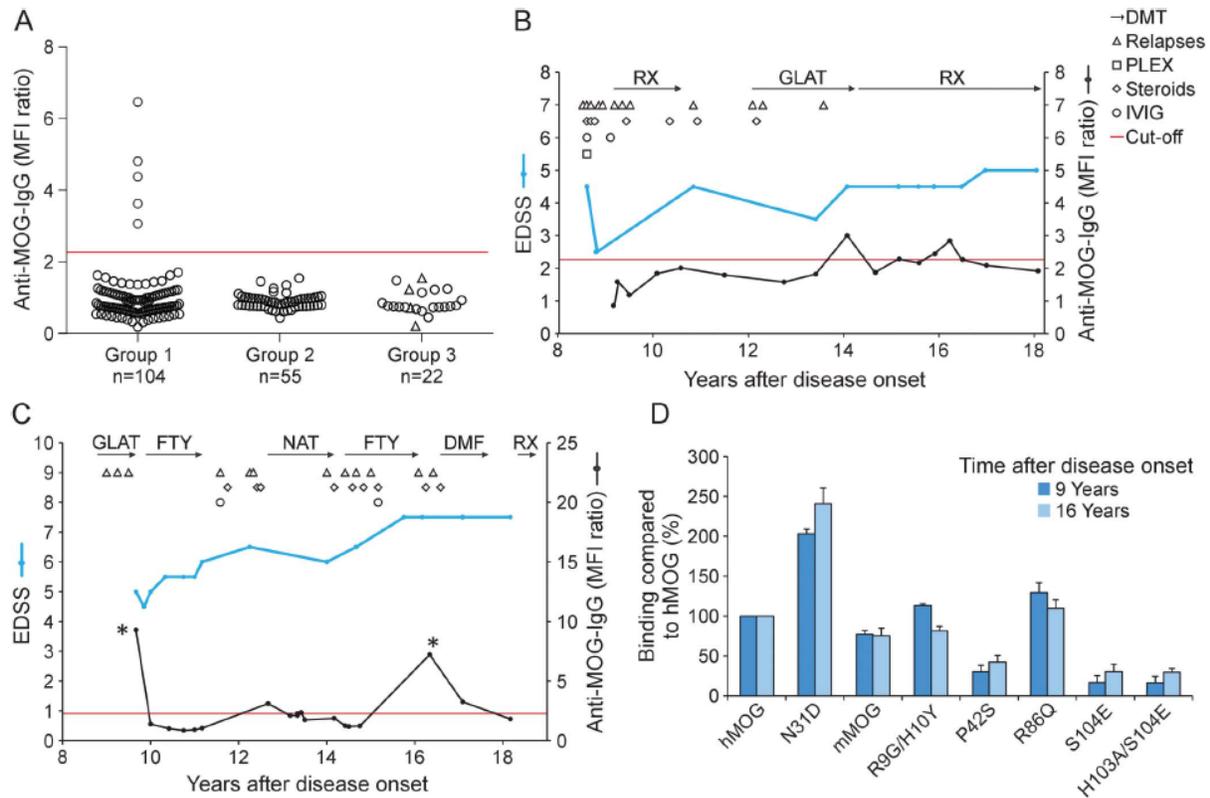


Abb 14. aus Spadaro M, Gerdes LA et al, Neurology Neuroimmunology Neuroinflammation 2016: (A) Anti-MOG-Reaktivität in 3 Gruppen von MS Patienten (1= rezidivierende Myelitis, Opticusneuritis, Hirnstammsyndrom, 2= unselektierte für Alter und Geschlecht gematchte MS Patienten; 3= biopsierte Patienten mit MS-Typ II Pathologie). (B,C) Klinische Charakteristika, Therapien und longitudinaler Verlauf der MOG-AK exemplarisch bei zwei Patienten. (D) Analyse der Spezifität der MOG-Reaktivität gegen verschiedene Epitope zu zwei Zeitpunkten.

In einer weiteren translationalen Studie mit Transfer von humanen MOG-Antikörpern von Patienten mit rezidivierenden Optikusneuritiden in ein experimentelles Tiermodell konnte kürzlich der Nachweis der pathogenen Aktivität der MOG-Antikörper erfolgen.⁵⁶

A.5.2 Biomarker für Therapiemonitoring (MxA)

Wie in der Einleitung ausgeführt stellt die Entwicklung von validen und sensitiven Biomarkern zum Therapiemonitoring der verlaufsmodifizierenden Therapie eine besondere Herausforderung dar. Dies spielt insbesondere bei IFN-beta-Therapien eine Rolle, da hier 10-30% der Patienten neutralisierende Antikörper (NAB) gegen Interferon-beta entwickeln, die die Bioaktivität von IFN-beta deutlich reduzieren und sich negativ auf die Therapieeffektivität auswirken. Die Analyse von IFN-beta-induzierten Genen bietet einen direkten und praktischen Zugang, die biologische Wirksamkeit zu analysieren. Ein Marker ist die quantitative Bestimmung der Expression von Myxovirus-Resistenzprotein A (MxA). Wir bestimmten daher in Serumproben von 81 RRMS Patienten, die mit unterschiedlichen IFN-beta-Präparaten behandelt waren sowie in 25 Kontrollseren die MxA Transkription mittels quantitativer TaqMan-PCR und konnten eine deutliche geringere Induktion von MxA bei Patienten mit zusätzlich positivem Nachweis von NAB detektieren.⁵⁷

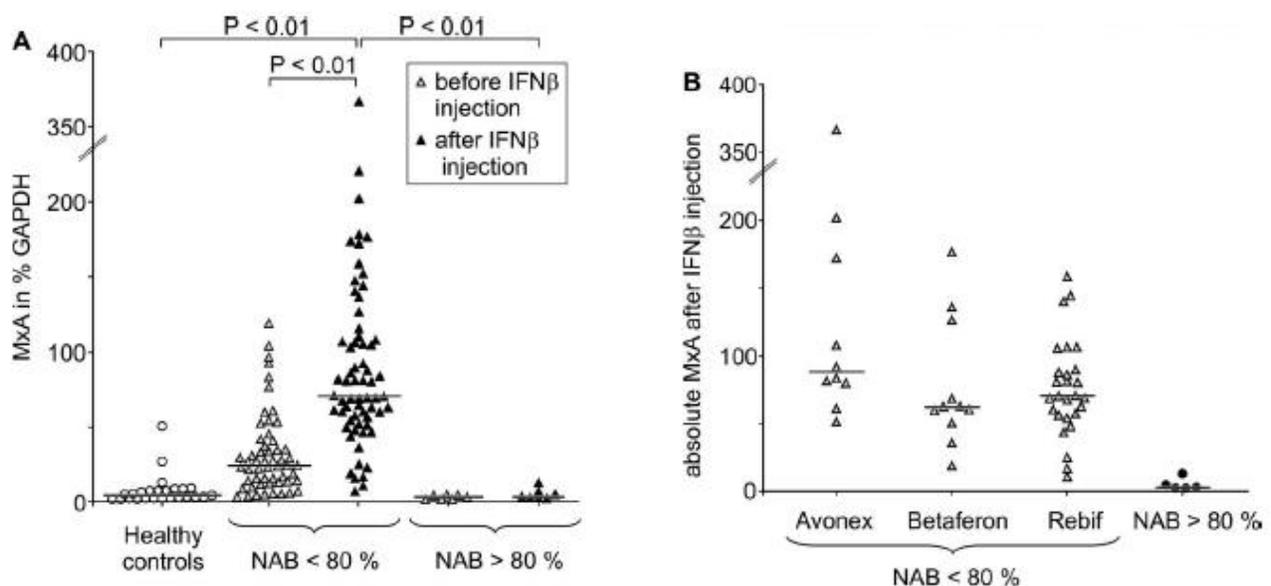


Abb 15. aus Hoffmann LA et al, Neurology 2007: (A) Nachweis einer signifikanten Induktion der Myxovirus-Resistenzproteins A (MxA) mRNA-Expression nach Injektion von Interferon-beta-Therapie in vivo bei Patienten mit niedrig nachweisbaren (NAB<80%) neutralisierenden Antikörpern gegen Interferon-beta im Gegensatz zu einer ausbleibenden MxA mRNA Expression bei NAB >80%. (B) Darstellung der absoluten MxA Werte nach Injektion von verschiedenen Interferon-beta-Präparaten.

In weiteren Studien in unserer Arbeitsgruppe an 107 MS Patienten konnten weitere durch Interferon-beta hochregulierte Faktoren (*MxA*, *BAFF/B-cell activating factor of the TNF family*) evaluiert werden und zudem weitere Erkenntnisse bzgl. der Rolle der B-Zell abhängigen Autoimmunität bei MS liefern.⁵⁸

A.6 Diskussion und Ausblick

Die hier vorgestellten Daten der habilitationsrelevanten Originalpublikationen weisen innovative Methoden sowie wissenschaftlich und klinisch relevante Ergebnisse in Bezug auf das bessere Verständnis von genetischem Risiko, Triggerfaktoren und Biomarkern für das Therapiemonitoring bei MS auf. Zudem konnten anhand genetischer und serologischer Biomarker neue mit MS assoziierte klinische Phänotypen identifiziert und charakterisiert werden.

Aufgrund der bereits umfassenden erhobenen Daten im Rahmen der nationalen Zwillingsstudie mit aktuell 70 eineiigen Zwillingspaaren mit Diskordanz für MS sind weitere Publikationen bzgl. Epigenetik, Immunophänotypisierung, Anwendung von neuen Biomarkern wie Neurofilament-light-chain-Messungen und optischer Kohärenztomografie in Vorbereitung. Darüber hinaus erfolgte in dieser Hochrisikokohorte eine detaillierte Charakterisierung mittels MRT-Untersuchungen sowie umfassender immunologischer Liquoruntersuchungen zur Detektion früher subklinischer Neuroinflammation und liefert weitere Optionen, Triggerfaktoren für die Entstehung der Multiplen Sklerose zu analysieren. Für die Fortführung und Ausweitung der nationalen Zwillingsstudie und der zahlreichen assoziierten Projekte konnte von der Habilitandin ein mit 400.000 € dotiertes Förderprogramm der Gemeinnützigen Hertie-Studie eingeworben werden.

A.7 Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen junger Erwachsener. In Deutschland sind etwa 200.000, weltweit etwa 2,5 Mio. Menschen an MS erkrankt. Trotz deutlich verbesserter Behandlungsmöglichkeiten führt die MS leider häufig zu bleibenden neurologischen Behinderungen. Das Risiko an MS zu erkranken wird sowohl durch Erbfaktoren, als auch durch Umweltfaktoren und Lebensgewohnheiten beeinflusst. Triggerfaktoren und die Pathogenese dieser komplexen Erkrankung sind nur teilweise verstanden, vermutet wird die Aktivierung einer „Autoimmunreaktion“, bei der das Immunsystem versehentlich den eigenen Körper attackiert. Zudem zeichnet sich ab, dass es unterschiedliche Subtypen der MS mit immunologisch, klinisch und therapeutisch relevanten Unterschieden gibt und eine möglichst valide und sensitive Identifikation dieser Patienten anhand von Biomarkern spielt eine wichtige Rolle für den behandelnden Arzt. Dank der Verfügbarkeit von vielen verschiedenen Therapiemöglichkeiten mit unterschiedlichen Wirkmechanismen ist es zudem wichtig, die potentiell wirksamste Therapie für den Patienten früh möglichst einsetzen zu können, um bleibende neurologische Defizite zu verhindern. Hier können Biomarker, die zum einen die Subtypen identifizieren und zum anderen die biologische Therapieeffektivität messen, wertvolle Informationen von hoher klinischer Relevanz liefern.

Ziel (1) der habilitationsrelevanten Originalarbeiten war weitere Erkenntnisse bzgl. der genetischen Suszeptibilität für MS zu erheben. Hier konnten einerseits durch die Mitarbeit an großen Konsortien von GWAS Studien neue Risikogene für MS identifiziert werden und aktuell sind 236 solcher Risikogene bekannt. Zum anderen erfolgte anhand molekulargenetischer Untersuchungen und klinischer Fallserien die Assoziation und Charakterisierung von genetischen Varianten mit einem klinischen Phänotyp der MS sowie auch komorbider autoinflammatorischer periodischer Syndrome. Diese Beobachtungen haben direkten Einfluss in die klinische Routine und Therapieentscheidungen an unserem neuroimmunologischen Institut genommen.

Ziel (2) war die Detektion von relevanten Triggerfaktoren, hier konnten wir einerseits mit der Identifikation von neuen immunregulatorischen Mechanismen (Checkpoint-Inhibitoren) als Auslöser der MS die Annahme einer Autoimmunreaktion untermauern. Zusätzlich konnten wir an unserem Institut eine weltweit einzigartige Kohorte von monozygoten Zwillingen mit Diskordanz für Multiple

Sklerose rekrutieren und anhand dieser Kohorte sowie Translation in ein innovatives Tiermodell eine Rolle der Darmflora (humanen Mikrobiota) als Triggerfaktor nachweisen.

Ziel (3) war die Evaluation und Validierung von neuen Biomarkern für die Diagnose von Subtypen und hier konnten wir einen wichtigen Beitrag zu der Charakterisierung der jetzt von MS fest abgegrenzten Krankheitsentität der MOG-Antikörper assoziierten Enzephalomyelitis beitragen. Des Weiteren konnten wir mit der Analyse von MxA einen Beitrag zum individuellen Therapiemonitoring unter Interferon-beta-Therapie liefern.

A.8 Literatur

1. Reich, D.S., Lucchinetti, C.F. & Calabresi, P.A. Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* **378**, 169-180 (2018).
2. Sawcer, S., Franklin, R.J.M. & Ban, M. Multiple sclerosis genetics. *The Lancet Neurology* **13**, 700-709.
3. Belbasis, L., Bellou, V., Evangelou, E., Ioannidis, J.P. & Tzoulaki, I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *The Lancet. Neurology* **14**, 263-273 (2015).
4. Olsson, T., Barcellos, L.F. & Alfredsson, L. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology* **13**, 25 (2016).
5. Baranzini, S.E. & Oksenberg, J.R. The Genetics of Multiple Sclerosis: From 0 to 200 in 50 Years. *Trends in Genetics* **33**, 960-970.
6. Smets, I. *et al.* Multiple sclerosis risk variants alter expression of co-stimulatory genes in B cells. *Brain* (2018).
7. International Multiple Sclerosis Genetics, C. *et al.* Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet* **45**, 1353-1360 (2013).
8. the International Multiple Sclerosis Genetics, C. Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nature Genetics* **47**, 1107 (2015).
9. Palace, J. Multiple sclerosis associated with Leber's Hereditary Optic Neuropathy. *J Neurol Sci* **286**, 24-27 (2009).
10. Pfeffer, G., Burke, A., Yu-Wai-Man, P., Compston, D.A. & Chinnery, P.F. Clinical features of MS associated with Leber hereditary optic neuropathy mtDNA mutations. *Neurology* **81**, 2073-2081 (2013).
11. Ebers, G.C. *et al.* Parent-of-origin effect in multiple sclerosis: observations in half-siblings. *Lancet (London, England)* **363**, 1773-1774 (2004).
12. Hoppenbrouwers, I.A. *et al.* Maternal transmission of multiple sclerosis in a dutch population. *Archives of neurology* **65**, 345-348 (2008).
13. Tranah, G.J. *et al.* Mitochondrial DNA sequence variation in multiple sclerosis. *Neurology* **85**, 325-330 (2015).
14. Hudson, G., Gomez-Duran, A., Wilson, I.J. & Chinnery, P.F. Recent mitochondrial DNA mutations increase the risk of developing common late-onset human diseases. *PLoS genetics* **10**, e1004369 (2014).
15. Hartl, C. *et al.* Seasonal variations of 25-OH vitamin D serum levels are associated with clinical disease activity in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* **375**, 160-164 (2017).
16. Lucas, R.M., Byrne, S.N., Correale, J., Ilschner, S. & Hart, P.H. Ultraviolet radiation, vitamin D and multiple sclerosis. *Neurodegenerative disease management* **5**, 413-424 (2015).
17. Degelman, M.L. & Herman, K.M. Smoking and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis using the Bradford Hill criteria for causation. *Multiple sclerosis and related disorders* **17**, 207-216 (2017).
18. Langer-Gould, A. *et al.* Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and multiple sclerosis susceptibility: A multiethnic study. *Neurology* **89**, 1330-1337 (2017).

19. Gianfrancesco, M.A. *et al.* Causal Effect of Genetic Variants Associated With Body Mass Index on Multiple Sclerosis Susceptibility. *Am J Epidemiol* **185**, 162-171 (2017).
20. Wekerle, H. Brain Autoimmunity and Intestinal Microbiota: 100 Trillion Game Changers. *Trends Immunol* **38**, 483-497 (2017).
21. Tremlett, H., Bauer, K.C., Appel-Cresswell, S., Finlay, B.B. & Waubant, E. The gut microbiome in human neurological disease: A review. *Ann Neurol* **81**, 369-382 (2017).
22. Berer, K. *et al.* Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature* **479**, 538-541 (2011).
23. Chen, J. *et al.* Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep* **6**, 28484 (2016).
24. Jangi, S. *et al.* Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun* **7**, 12015 (2016).
25. Mangalam, A. *et al.* Human Gut-Derived Commensal Bacteria Suppress CNS Inflammatory and Demyelinating Disease. *Cell Rep* **20**, 1269-1277 (2017).
26. Miyake, S. *et al.* Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *PLoS One* **10**, e0137429 (2015).
27. Thompson, A.J. *et al.* Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology* **17**, 162-173 (2018).
28. Brownlee, W.J., Hardy, T.A., Fazekas, F. & Miller, D.H. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet* **389**, 1336-1346 (2017).
29. Lassmann, H. Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* (2018).
30. Cree, B.A. *et al.* Long-term evolution of multiple sclerosis disability in the treatment era. *Ann Neurol* **80**, 499-510 (2016).
31. Korteweg, T. *et al.* Interobserver agreement on the radiological criteria of the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Eur Radiol* **17**, 67-71 (2007).
32. Okuda, D.T. *et al.* Radiologically isolated syndrome: 5-year risk for an initial clinical event. *PLoS One* **9**, e90509 (2014).
33. Kantarci, O.H. *et al.* Primary Progressive Multiple Sclerosis Evolving From Radiologically Isolated Syndrome. *Ann Neurol* **79**, 288-294 (2016).
34. Lebrun, C., Kantarci, O.H., Siva, A., Pelletier, D. & Okuda, D.T. Anomalies Characteristic of Central Nervous System Demyelination: Radiologically Isolated Syndrome. *Neurologic clinics* **36**, 59-68 (2018).
35. De Stefano, N. *et al.* Improving the characterization of radiologically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *PLoS One* **6**, e19452 (2011).
36. Ramagopalan, S.V., Dobson, R., Meier, U.C. & Giovannoni, G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *The Lancet. Neurology* **9**, 727-739 (2010).
37. Lill, C.M. *et al.* Genome-wide significant association with seven novel multiple sclerosis risk loci. *Journal of medical genetics* **52**, 848-855 (2015).
38. Lill, C.M. *et al.* Assessment of microRNA-related SNP effects in the 3' untranslated region of the IL22RA2 risk locus in multiple sclerosis. *Neurogenetics* **15**, 129-134 (2014).
39. Lill, C.M. *et al.* Independent replication of STAT3 association with multiple sclerosis risk in a large German case-control sample. *Neurogenetics* **13**, 83-86 (2012).
40. Lill, C.M. *et al.* MANBA, CXCR5, SOX8, RPS6KB1 and ZBTB46 are genetic risk loci for multiple sclerosis. *Brain* **136**, 1778-1782 (2013).
41. Lill, C.M. *et al.* Genome-wide significant association of ANKRD55 rs6859219 and multiple sclerosis risk. *Journal of medical genetics* **50**, 140-143 (2013).
42. Sadovnick, A.D. *et al.* Analysis of Plasminogen Genetic Variants in Multiple Sclerosis Patients. *G3 (Bethesda, Md.)* **6**, 2073-2079 (2016).
43. Hoffmann, L.A. *et al.* TNFRSF1A R92Q mutation in association with a multiple sclerosis-like demyelinating syndrome. *Neurology* **70**, 1155-1156 (2008).
44. Kumpfel, T. *et al.* Multiple sclerosis and the TNFRSF1A R92Q mutation: clinical characteristics of 21 cases. *Neurology* **71**, 1812-1820 (2008).
45. Havla, J., Lohse, P., Gerdes, L.A., Hohlfeld, R. & Kumpfel, T. Symptoms related to tumor necrosis factor receptor 1-associated periodic syndrome, multiple sclerosis, and severe rheumatoid arthritis in

- patients carrying the TNF receptor superfamily 1A D12E/p.Asp41Glu mutation. *The Journal of rheumatology* **40**, 261-264 (2013).
46. Kumpfel, T. *et al.* Familial Mediterranean fever-associated mutation pyrin E148Q as a potential risk factor for multiple sclerosis. *Mult Scler* **18**, 1229-1238 (2012).
 47. Schuh, E. *et al.* Expanding spectrum of neurologic manifestations in patients with NLRP3 low-penetrance mutations. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* **2**, e109 (2015).
 48. Souren, N.Y. *et al.* Mitochondrial DNA Variation and Heteroplasmy in Monozygotic Twins Clinically Discordant for Multiple Sclerosis. *Hum Mutat* **37**, 765-775 (2016).
 49. Gerdes, L.A. *et al.* CTLA4 as Immunological Checkpoint in the Development of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* **80**, 294-300 (2016).
 50. Berer, K. *et al.* Gut microbiota from multiple sclerosis patients enables spontaneous autoimmune encephalomyelitis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **114**, 10719-10724 (2017).
 51. Baranzini, S.E. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models. *Proc. Natl Acad. Sci. Usa* (2017).
 52. Hindson, J. A possible link between multiple sclerosis and gut microbiota. *Nature Reviews Neurology* **13**, 705 (2017).
 53. Burton, A. Multiple sclerosis: what's it got to do with your guts? *The Lancet Neurology* (2017).
 54. Spadaro, M. *et al.* Histopathology and clinical course of MOG-antibody-associated encephalomyelitis. *Annals of clinical and translational neurology* **2**, 295-301 (2015).
 55. Spadaro, M. *et al.* Autoantibodies to MOG in a distinct subgroup of adult multiple sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* **3**, e257 (2016).
 56. Spadaro, M. *et al.* Pathogenicity of human antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Ann Neurol* **84**, 315-328 (2018).
 57. Hoffmann, L.A. *et al.* Multiple sclerosis: relating MxA transcription to anti-interferon-beta-neutralizing antibodies. *Neurology* **68**, 958-959 (2007).
 58. Krumbholz, M. *et al.* Interferon-beta increases BAFF levels in multiple sclerosis: implications for B cell autoimmunity. *Brain* **131**, 1455-1463 (2008).

B. Publikationsliste

- 1: Spadaro M, Winklmeier S, Beltrán E, Macrini C, Höftberger R, Schuh E, Thaler FS, **Gerdes LA**, Laurent S, Gerhards R, Brändle S, Dornmair K, Breithaupt C, Krumbholz M, Moser M, Krishnamoorthy G, Kamp F, Jenne D, Hohlfeld R, Kümpfel T, Lassmann H, Kawakami N, Meinl E. Pathogenicity of human antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Ann Neurol*. 2018 Aug;84(2):315-328. DOI: [10.1002/ana.25291](https://doi.org/10.1002/ana.25291)
- 2: Berer K*, **Gerdes LA***, Cekanaviciute E, Jia X, Xiao L, Xia Z, Liu C, Klotz L, Stauffer U, Baranzini SE, Kümpfel T, Hohlfeld R, Krishnamoorthy G, Wekerle H. Gut microbiota from multiple sclerosis patients enables spontaneous autoimmune encephalomyelitis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Sep 11. DOI: [10.1073/pnas.1711233114](https://doi.org/10.1073/pnas.1711233114)
- 3: Hartl C, Obermeier V, **Gerdes LA**, Brügel M, von Kries R, Kümpfel T. Seasonal variations of 25-OH vitamin D serum levels are associated with clinical disease activity in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci*. 2017 Apr 15;375:160-164. DOI:[10.1016/j.jns.2017.01.059](https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.01.059)
- 4: Souren NY*, **Gerdes LA***, Kümpfel T, Lutsik P, Klopstock T, Hohlfeld R, Walter J. Mitochondrial DNA Variation and Heteroplasmy in Monozygotic Twins Clinically Discordant for Multiple Sclerosis. *Hum Mutat*. 2016 Aug;37(8):765-75. DOI:[10.1002/humu.23003](https://doi.org/10.1002/humu.23003)
- 5: **Gerdes LA***, Held K*, Beltrán E*, Berking C, Prinz JC, Junker A, Tietze JK, Ertl-Wagner B, Straube A, Kümpfel T, Dornmair K, Hohlfeld R. CTLA4 as Immunological Checkpoint in the Development of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*. 2016 Aug;80(2):294-300. DOI:[10.1002/ana.24715](https://doi.org/10.1002/ana.24715)
- 6: Sadovnick AD, Traboulsee AL, Bernales CQ, Ross JP, Forwell AL, Yee IM, Guillot-Noel L, Fontaine B, Cournu-Rebeix I, Alcina A, Fedetz M, Izquierdo G, Matesanz F, Hilven K, Dubois B, Goris A, Astobiza I, Alloza I, Antigüedad A, Vandenbroeck K, Akkad DA, Aktas O, Blaschke P, Buttman M, Chan A, Epplen JT, **Gerdes LA**, Kroner A, Kubisch C, Kümpfel T, Lohse P, Rieckmann P, Zettl UK, Zipp F, Bertram L, Lill CM, Fernandez O, Urbaneja P, Leyva L, Alvarez-Cermeño JC, Arroyo R, Garagorri AM, García-Martínez A, Villar LM, Urcelay E, Malhotra S, Montalban X, Comabella M, Berger T, Fazekas F, Reindl M, Schmied MC, Zimprich A, Vilariño-Güell C. Analysis of Plasminogen Genetic Variants in Multiple Sclerosis Patients. *G3 (Bethesda)*. 2016 Jul 7;6(7):2073-9. DOI:[10.1534/g3.116.030841](https://doi.org/10.1534/g3.116.030841)
- 7: Spadaro M*, **Gerdes LA***, Krumbholz M, Ertl-Wagner B, Thaler FS, Schuh E, Metz I, Blaschke A, Dick A, Brück W, Hohlfeld R, Meinl E, Kümpfel T. Autoantibodies to MOG in a distinct subgroup of adult multiple sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2016 Jun 30;3(5):e257. DOI:[10.1212/NXI.0000000000000257](https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000257)
- 8: Kümpfel T, **Gerdes LA**, Heck C, Prüss H. Delayed diagnosis of extraovarian teratoma in relapsing anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2016 Jun 16;3(4):e250. DOI:[10.1212/NXI.0000000000000250](https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000250)
- 9: Schankin CJ, Kästele F, **Gerdes LA**, Winkler T, Csanadi E, Högen T, Pellkofer H, Paulus W, Kümpfel T, Straube A. New-Onset Headache in Patients With Autoimmune Encephalitis Is Associated With anti-NMDA-Receptor Antibodies. *Headache*. 2016 Jun;56(6):995-1003. DOI: [10.1111/head.12853](https://doi.org/10.1111/head.12853)
- 10: Schrewe L, Lill CM, Liu T, Salmen A, **Gerdes LA**, Guillot-Noel L, Akkad DA, Blaschke P, Graetz C, Hoffjan S, Kroner A, Demir S, Böhme A, Rieckmann P, ElAli A, Hagemann N, Hermann DM, Cournu-Rebeix I, Zipp F, Kümpfel T, Buttman M, Zettl UK, Fontaine B, Bertram L, Gold R, Chan A. Investigation of sex-specific effects of apolipoprotein E on severity of EAE and MS. *J Neuroinflammation*. 2015 Dec 16;12:234. DOI: [10.1186/s12974-015-0429-y](https://doi.org/10.1186/s12974-015-0429-y)

- 11: Lill CM, Luessi F, Alcina A, Sokolova EA, Ugidos N, de la Hera B, Guillot-Noël L, Malhotra S, Reinhaller E, Schjeide BM, Mescheriakova JY, Mashychev A, Wohlers I, Akkad DA, Aktas O, Alloza I, Antigüedad A, Arroyo R, Astobiza I, Blaschke P, Boyko AN, Buttmann M, Chan A, Dörner T, Epplen JT, Favorova OO, Fedetz M, Fernández O, García-Martínez A, **Gerdes LA**, Graetz C, Hartung HP, Hoffjan S, Izquierdo G, Korobko DS, Kroner A, Kubisch C, Kümpfel T, Leyva L, Lohse P, Malkova NA, Montalban X, Popova EV, Rieckmann P, Rozhdestvenskii AS, Schmied C, Smagina IV, Tsareva EY, Winkelmann A, Zettl UK, Binder H, Courneu-Rebeix I, Hintzen R, Zimprich A, Comabella M, Fontaine B, Urcelay E, Vandebroek K, Filipenko M, Matesanz F, Zipp F, Bertram L. Genome-wide significant association with seven novel multiple sclerosis risk loci. *J Med Genet*. 2015 Dec;52(12):848-55. DOI:[10.1136/jmedgenet-2015-103442](https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103442)
- 12: Schuh E, Lohse P, Ertl-Wagner B, Witt M, Krumbholz M, Frankenberger M, **Gerdes LA**, Hohlfeld R, Kümpfel T. Expanding spectrum of neurologic manifestations in patients with NLRP3 low-penetrance mutations. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015 May 14;2(4):e109. DOI:[10.1212/NXI.000000000000109](https://doi.org/10.1212/NXI.000000000000109)
- 13: Spadaro M*, **Gerdes LA***, Mayer MC, Ertl-Wagner B, Laurent S, Krumbholz M, Breithaupt C, Högen T, Straube A, Giese A, Hohlfeld R, Lassmann H, Meinl E, Kümpfel T. Histopathology and clinical course of MOG-antibody-associated encephalomyelitis. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Mar;2(3):295-301. DOI:[10.1002/acn3.164](https://doi.org/10.1002/acn3.164)
- 14: Lill CM, Schilling M, Ansaloni S, Schröder J, Jaedicke M, Luessi F, Schjeide BM, Mashychev A, Graetz C, Akkad DA, **Gerdes LA**, Kroner A, Blaschke P, Hoffjan S, Winkelmann A, Dörner T, Rieckmann P, Steinhagen-Thiessen E, Lindenberger U, Chan A, Hartung HP, Aktas O, Lohse P, Buttmann M, Kümpfel T, Kubisch C, Zettl UK, Epplen JT, Zipp F, Bertram L. Assessment of microRNA-related SNP effects in the 3' untranslated region of the IL22RA2 risk locus in multiple sclerosis. *Neurogenetics*, 15(2):129-34, 2014. DOI:[10.1007/s10048-014-0396-y](https://doi.org/10.1007/s10048-014-0396-y)
- 15: International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Lill CM, Schjeide BM, Graetz C, Ban M, Alcina A, Ortiz MA, Pérez J, Damotte V, Booth D, Lopez de Lapuente A, Broer L, Schilling M, Akkad DA, Aktas O, Alloza I, Antigüedad A, Arroyo R, Blaschke P, Buttmann M, Chan A, Compston A, Courneu-Rebeix I, Dörner T, Epplen JT, Fernández Ó, **Gerdes LA**, Guillot-Noël L, Hartung HP, Hoffjan S, Izquierdo G, Kemppinen A, Kroner A, Kubisch C, Kümpfel T, Li SC, Lindenberger U, Lohse P, Lubetzki C, Luessi F, Malhotra S, Mescheriakova J, Montalban X, Papeix C, Paredes LF, Rieckmann P, Steinhagen-Thiessen E, Winkelmann A, Zettl UK, Hintzen R, Vandebroek K, Stewart G, Fontaine B, Comabella M, Urcelay E, Matesanz F, Sawcer S, Bertram L, Zipp F. MANBA, CXCR5, SOX8, RPS6KB1 and ZBTB46 are genetic risk loci for multiple sclerosis. *Brain*, 136:1778-82, 2013. DOI:[10.1093/brain/awt101](https://doi.org/10.1093/brain/awt101)
- 16: Havla J, Lohse P, **Gerdes LA**, Hohlfeld R, Kümpfel T. Symptoms related to tumor necrosis factor receptor 1-associated periodic syndrome, multiple sclerosis, and severe rheumatoid arthritis in patients carrying the TNF receptor superfamily 1A D12E/p.Asp41Glu mutation. *J Rheumatol*. Mar;40(3):261-4, 2013. DOI:[10.3899/jrheum.120729](https://doi.org/10.3899/jrheum.120729)
- 17: Lill CM, Schjeide BM, Graetz C, Liu T, Damotte V, Akkad DA, Blaschke P, **Gerdes LA**, Kroner A, Luessi F, Courneu-Rebeix I, Hoffjan S, Winkelmann A, Touze E, Pico F, Corcia P, Otaegui D, Antigüedad A, Alcina A, Comabella M, Montalban X, Olascoaga J, Matesanz F, Dörner T, Li SC, Steinhagen-Thiessen E, Lindenberger U, Chan A, Rieckmann P, Hartung HP, Aktas O, Lohse P, Buttmann M, Kümpfel T, Kubisch C, Zettl UK, Epplen JT, Fontaine B, Zipp F, Vandebroek K, Bertram L. Genome-wide significant association of ANKRD55 rs6859219 and multiple sclerosis risk. *Journal of Medical Genetics*, 50(3):140-3, 2013. DOI:[10.1136/jmedgenet-2012-101411](https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101411)
- 18: Lill CM, Liu T, Schjeide BM, Roehr JT, Akkad DA, Damotte V, Alcina A, Ortiz MA, Arroyo R, Lopez de Lapuente A, Blaschke P, Winkelmann A, **Gerdes LA**, Luessi F, Fernandez O, Izquierdo G, Antigüedad A,

- Hoffjan S, Cournu-Rebeix I, Gromöller S, Faber H, Liebsch M, Meissner E, Chanvillard C, Touze E, Pico F, Corcia P; ANZgene Consortium, Dörner T, Steinhagen-Thiessen E, Baeckman L, Heekeren HR, Li SC, Lindenberger U, Chan A, Hartung HP, Aktas O, Lohse P, Kümpfel T, Kubisch C, Epplen JT, Zettl UK, Fontaine B, Vandenbroeck K, Matesanz F, Urcelay E, Bertram L, Zipp F. Closing the case of APOE in multiple sclerosis: no association with disease risk in over 29 000 subjects. *Journal of Medical Genetics*, 49(9):558-62, 2012. DOI:[10.1136/jmedgenet-2012-101175](https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101175)
- 19: Kümpfel T, **Gerdes LA**, Wacker T, Blaschek A, Havla J, Krumbholz M, Pöllmann W, Feneberg W, Hohlfeld R, Lohse P. Familial Mediterranean fever-associated mutation pyrin E148Q as a potential risk factor for multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 18(9):1229-38, 2012. DOI:[10.1177/1352458512437813](https://doi.org/10.1177/1352458512437813)
- 20: Havla JB, Pellkofer HL, Meinl I, **Gerdes LA**, Hohlfeld R, Kümpfel T. Rebound of disease activity after withdrawal of fingolimod (FTY720) treatment. *Archives of neurology*, 69(2):262-4, 2012. DOI:[10.1001/archneurol.2011.1057](https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.1057)
- 21: Lill CM, Schjeide BM, Akkad DA, Blaschke P, Winkelmann A, **Gerdes LA**, Hoffjan S, Luessi F, Dörner T, Li SC, Steinhagen-Thiessen E, Lindenberger U, Chan A, Hartung HP, Aktas O, Lohse P, Kümpfel T, Kubisch C, Epplen JT, Zettl UK, Bertram L, Zipp F. Independent replication of STAT3 association with multiple sclerosis risk in a large German case-control sample. *Neurogenetics*. 2012 Feb;13(1):83-6. DOI:[10.1007/s10048-011-0305-6](https://doi.org/10.1007/s10048-011-0305-6)
- 22: Roos KL*, **Gerdes LA***, Kurz K, Kretzschmar H, Kümpfel T, Parisi JE, Keegan BM. An enhancing brainstem lesion in a patient with a history of worldwide travel. *Neurology*, 77(19):1756-60, 2011. DOI:[10.1212/WNL.0b013e318236eec2](https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318236eec2)
- 23: Pfefferkorn T, Saam T, Rominger A, Habs M, **Gerdes LA**, Schmidt C, Cyran C, Straube A, Linn J, Nikolaou K, Bartenstein P, Reiser M, Hacker M, Dichgans M. Vessel wall inflammation in spontaneous cervical artery dissection: a prospective, observational positron emission tomography, computed tomography, and magnetic resonance imaging study. *Stroke*. 2011 Jun;42(6):1563-8. DOI:[10.1161/STROKEAHA.110.599548](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.599548)
- 24: Pellkofer HL, Krumbholz M, Berthele A, Hemmer B, **Gerdes LA**, Havla J, Bittner R, Canis M, Meinl E, Hohlfeld R, Kuempfel T. Long-term follow-up of patients with neuromyelitis optica after repeated therapy with rituximab. *Neurology*. 2011 Apr 12;76(15):1310-5. DOI:[10.1212/WNL.0b013e3182152881](https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182152881)
- 25: Havla J, **Gerdes LA**, Meinl I, Krumbholz M, Faber H, Weber F, Pellkofer HL, Hohlfeld R, Kümpfel T. De-escalation from natalizumab in multiple sclerosis: recurrence of disease activity despite switching to glatiramer acetate. *The Journal of Neurology*. 258(9):1665-9, 2011. DOI:[10.1007/s00415-011-5996-y](https://doi.org/10.1007/s00415-011-5996-y)
- 26: Kümpfel T, **Gerdes LA**, Flaig M, Hohlfeld R, Wollenberg A. Drug-induced Sweet's syndrome after mitoxantrone therapy in a patient with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 17(4):495-7, 2011. DOI:[10.1177/1352458510390069](https://doi.org/10.1177/1352458510390069)
- 27: Kümpfel T, **Hoffmann LA**, Pellkofer H, Pöllmann W, Feneberg W, Hohlfeld R, Lohse P. Multiple sclerosis and the TNFRSF1A R92Q mutation: clinical characteristics of 21 cases. *Neurology*. 2008 Nov 25;71(22):1812-20. DOI:[10.1212/01.wnl.0000335930.18776.47](https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000335930.18776.47)
- 28: Jarius S, **Hoffmann LA**, Stich O, Clover L, Rauer S, Vincent A, Voltz R. Relative frequency of VGKC and 'classical' paraneoplastic antibodies in patients with limbic encephalitis. *J Neurol*. 2008 Jul;255(7):1100-1. DOI:[10.1007/s00415-008-0845-3](https://doi.org/10.1007/s00415-008-0845-3)
- 29: Krumbholz M, Faber H, Steinmeyer F, **Hoffmann LA**, Kümpfel T, Pellkofer H, Derfuss T, Ionescu C, Starck M, Hafner C, Hohlfeld R, Meinl E. Interferon-beta increases BAFF levels in multiple sclerosis: implications for B cell autoimmunity. *Brain*. 2008 Jun;131(Pt 6):1455-63. DOI:[10.1093/brain/awn077](https://doi.org/10.1093/brain/awn077)

- 30: **Hoffmann LA**, Lohse P, König FB, Feneberg W, Hohlfeld R, Kümpfel T. TNFRSF1A R92Q mutation in association with a multiple sclerosis-like demyelinating syndrome. *Neurology*. 2008 Mar 25;70(13 Pt 2):1155-6. DOI:[10.1212/01.wnl.0000296279.98236.8a](https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000296279.98236.8a)
- 31: **Hoffmann LA**, Jarius S, Pellkofer HL, Schueller M, Krumbholz M, Koenig F, Johannis W, la Fougere C, Newman T, Vincent A, Voltz R. Anti-Ma and anti-Ta associated paraneoplastic neurological syndromes: 22 newly diagnosed patients and review of previous cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Jul;79(7):767-73. DOI:[10.1136/jnnp.2007.118588](https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.118588)
- 32: Krumbholz M, Pellkofer H, Gold R, **Hoffmann LA**, Hohlfeld R, Kümpfel T. Delayed allergic reaction to natalizumab associated with early formation of neutralizing antibodies. *Arch Neurol*. 2007 Sep;64(9):1331-3. DOI:[10.1001/archneur.64.9.1331](https://doi.org/10.1001/archneur.64.9.1331)
- 33: Kümpfel T, **Hoffmann LA**, Rübsamen H, Pöllmann W, Feneberg W, Hohlfeld R, Lohse P. Late-onset tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome in multiple sclerosis patients carrying the TNFRSF1A R92Q mutation. *Arthritis Rheum*. 2007 Aug;56(8):2774-83. DOI:[10.1002/art.22795](https://doi.org/10.1002/art.22795)
- 34: **Hoffmann LA**, Krumbholz M, Faber H, Kuempfel T, Starck M, Pöllmann W, Meinl E, Hohlfeld R. Multiple sclerosis: relating MxA transcription to anti-interferon-beta-neutralizing antibodies. *Neurology*. 2007 Mar 20;68(12):958-9. DOI:[10.1212/01.wnl.0000257128.53775.62](https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000257128.53775.62)
- 35: Kümpfel T, **Hoffmann LA**, Pöllmann W, Rieckmann P, Zettl UK, Kühnbach R, Borasio GD, Voltz R. Palliative care in patients with severe multiple sclerosis: two case reports and a survey among German MS neurologists. *Palliat Med*. 2007 Mar;21(2):109-14. DOI:[10.1177/0269216306075112](https://doi.org/10.1177/0269216306075112)
- 36: Storch-Hagenlocher B, Haas J, Vogt-Schaden ME, Bentz M, **Hoffmann LA**, Biessmann A, Wildemann B. Molecular analysis of the CDR3 encoding region of the immunoglobulin heavy chain locus in cerebrospinal fluid cells as a diagnostic tool in lymphomatous meningitis. *Ann Neurol*. 2000 Feb;47(2):211-7. [https://doi-
org.emedien.ub.uni-muenchen.de/10.1002/1531-8249\(200002\)47:2<211::AID-ANA11>3.0.CO;2-9](https://doi.org/emedien.ub.uni-muenchen.de/10.1002/1531-8249(200002)47:2<211::AID-ANA11>3.0.CO;2-9)

*=geteilte Erstautorenschaft