

Aus dem Institut für Klinische Neuroimmunologie und dem Biomedizinischen Zentrum

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor:

Prof. Dr. med. Martin Kerschensteiner

**Autoantikörper bei neuroimmunologischen Erkrankungen
und ihre Rolle bei der Krankheitspathogenese und während
der Schwangerschaft**

Kumulative Habilitationsschrift

zur Erlangung der VENIA LEGENDI im Fach Experimentelle Neuroimmunologie

an der Fakultät für Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von Mag.Biol. Simone Mader, PhD (2022)

Inhaltsverzeichnis

A.	ZNS-reaktive Antikörper bei neuroimmunologischen Erkrankungen und ihre Rolle bei der Krankheitspathogenese und während der Schwangerschaft
A.1	Hintergrund
A.2	Zielsetzung der für die Habilitation relevanten Arbeiten
A.3	Ergebnisse und Diskussion der für die Habilitation relevanten Arbeiten
A.3.1	Rolle der Antikörper bei den <i>Neuromyelitis-optica</i> -Spektrum-Erkrankungen (NMOSD)
A.3.1.1	Bedeutung der AQP4-Antikörper als Biomarker
A.3.1.2	Die Rolle der AQP4-Antikörper bei der Pathogenese der NMOSD
A.3.2	Rolle der Antikörper bei durch MOG-IgG assoziierten Erkrankungen (MOGAD)
A.3.3	Antikörper bei einer neuropsychiatrischen Beteiligung des SLE
A.3.4	ZNS-reaktive Antikörper während der Schwangerschaft
A.4	Zusammenfassung und Ausblick
A.5	Literatur
B.	Lebenslauf
C.	Publikationsverzeichnis
D.	Danksagungen

A. ZNS-reaktive Antikörper bei neuroimmunologischen Erkrankungen und ihre Rolle bei der Krankheitspathogenese und während der Schwangerschaft

A.1 Hintergrund

Bei Autoimmunerkrankungen handelt es sich um chronische Entzündungsprozesse, von denen aktuell ca. 5-7 % der Weltbevölkerung betroffen sind (1). Bei den meisten Patienten und Patientinnen kann man zirkulierende Autoantikörper nachweisen, wobei bei etwa 2-3 % der Durchschnittsbevölkerung Autoantikörper gegen verschiedene Strukturen des zentralen Nervensystems (ZNS) vorkommen (1). Diese Antikörper verursachen aber meistens keine Pathologie im Gehirn oder Rückenmark, da sie nicht in ausreichender Konzentration in das Gewebe im ZNS gelangen können (1, 2). Denn wegen der Blut-Hirn-Schranke ist das Gehirn für Antikörper nur eingeschränkt erreichbar. Wenn es allerdings zu Schädigungen kommt, die mit einer Störung der Blut-Hirn-Schranke verbunden sind, dann können Autoantikörper in das Gewebe des ZNS eindringen und es schädigen (1-3). Im Unterschied zum ausgereiften Gehirn können Autoantikörper das ZNS darüber hinaus auch in der frühen Entwicklungsphase der Schwangerschaft penetrieren (2), weil die Entwicklung einer intakten Blut-Hirn-Schranke zu diesem Zeitpunkt noch nicht vollständig abgeschlossen ist.

ZNS-reaktive Antikörper können bei Autoimmunerkrankungen, Infektionskrankheiten oder auch bei malignen Erkrankungen zu neurologischen Komplikationen führen (1), wobei die Bildung von den ZNS-reaktiven Antikörpern durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst wird.

Autoantikörper können im Rahmen einer Autoimmunerkrankung auftreten, die dann häufig mit den Eigenschaften einer Autoimmunität, wie zum Beispiel einer Assoziation des HLA (Human Leukocyte Antigen)-Systems oder einer genetischen Suszeptibilität mit bestimmten Risiko-Allelen assoziiert ist. Ein Beispiel dafür bildet der neuropsychiatrische systemische *Lupus erythematoses* (NPSLE) (4). Diese Erkrankung, bei der viele unterschiedliche neurologische und psychiatrische Symptome in Verbindung mit einem systemischen *Lupus erythematoses* (SLE) auftreten können, ist oftmals mit einem bestimmten HLA Haplotypen verbunden und die betroffenen Patienten und Patientinnen weisen häufig zusätzliche Risikoallele auf (1, 4). Die Autoantikörper können dabei bereits bestehende schädliche Reaktionen des Immunsystems verschlimmern oder solche Reaktionen auch auslösen. Bei einem NPSLE weisen einige Patienten und Patientinnen auch Antikörper gegen doppelsträngige (ds) DNA oder anti-Ribosomale-P Antikörper auf, die mit Antigenen auf der Zelloberfläche der Neuronen kreuzreagieren können (5-7). Ein weiteres

Beispiel für das Auftreten von Autoantikörper als Folge einer Autoimmunerkrankung stellen die *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen dar (engl. Neuromyelitis optica spectrum disorders; NMOSD). Hier handelt es sich um eine Gruppe von neurologischen Autoimmunerkrankungen, die sich von der Multiplen Sklerose (MS) unterscheiden, wobei die Abgrenzung vor allem zu Beginn der Erkrankung klinisch nicht immer eindeutig möglich ist. Bei den meisten Patienten und Patientinnen mit NMOSD können Antikörper gegen das Wasserkanalprotein Aquaporin-4 (AQP4) nachgewiesen werden ((8)8). AQP4 Autoantikörper können eine Diagnose und eine gezielte therapeutische Behandlung der Patienten und Patientinnen entscheidend unterstützen und dadurch eine Prävention von ansonsten schweren Krankheitsverläufen ermöglichen (9).

Die Bildung von Autoantikörpern kann auch durch eine fehlgeleitete Immunantwort aufgrund von exogenen Antigenen ausgelöst werden, die mit Antigenen des ZNS kreuzreagieren können (1). Dabei handelt es sich meist um mikrobielle Antigene oder Lebensmittelallergene. Wenn dies im Zusammenhang mit einer Autoimmunität auftritt, dann kommt es zu einer anhaltenden Bildung von Autoantikörpern, auch wenn das exogene Antigen nicht mehr vorhanden ist (1). Ein Beispiel für eine solche Kreuzreaktivität bildet das Chorea Sydenham als eine neurologische Erkrankung, die mit einem rheumatischen Fieber verbunden ist und bei der die Patienten und Patientinnen Antikörper gegen β -hämolisierende Streptokokken der Gruppe A (GAS) produzieren, die mit neuronalen Dopamin-Rezeptoren kreuzreagieren können (1, 10).

Als eine weitere mögliche Ursache für die Entwicklung von Autoantikörpern gilt eine paraneoplastische Reaktion gegen kryptische Tumorantigene. Dabei kommt es zu einer Kreuzreaktion mit identischen oder strukturell ähnlichen Antigenen im Gehirn (1). Dazu gehören häufig Antikörper gegen Hu, Yo, Ri, Ma2, CV2 oder Amphiphysin und die Patienten und Patientinnen weisen häufig Störungen des Gedächtnisses und der Wahrnehmung, psychiatrische Auffälligkeiten, Wesensänderungen, epileptische Anfälle, Störungen der Koordination, Bewegungsstörungen oder Gangunsicherheit auf (11). Eine frühe Behandlung und Entfernung des Tumors kann oftmals den paraneoplastischen Autoimmunprozess beenden (11). Dies hängt allerdings auch davon ab, gegen welche Zielstrukturen sich die Autoantikörper richten und welche Effektormechanismen von den Antikörpern vermittelt werden.

In den letzten Jahren wurden einige neue Autoantikörper bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen entdeckt (12), was vor allem auf eine Verbesserung und Entwicklung von neuer und alternativen Detektionsmethoden und auch auf die Möglichkeit der Generierung von monoklonalen Antikörpern durch eine Einzelzellsortierung aus Liquor Zellen zurückzuführen ist (13, 14).

Gegenüber dem Gehirn reaktive Autoantikörper können neuronale oder auch nicht-neuronale Antigene binden und sich dabei gegen extrazelluläre oder intrazelluläre Antigene richten (3). Bei neu entdeckten Autoantikörpern kann man danach fragen, wie wichtig sie für die Beurteilung des Krankheitsrisikos, des Schweregrades und der Prognose der Erkrankung sind. Über die Bedeutung der Autoantikörper als mögliche Biomarker hinaus ist es aber auch relevant, ihre Bedeutung für den Krankheitsprozess zu verstehen und dabei insbesondere zu erschließen, ob sie an der Entstehung der Erkrankung beteiligt sind oder zu einer Verschlimmerung einer bereits bestehenden Erkrankung führen können.

Bei einigen Autoantikörpern wurde bereits *in vitro* und *in vivo* nachgewiesen, dass sie „krankheitsauslösend“ sind. Dies wurde zum Beispiel bei einigen paraneoplastischen Erkrankungen des ZNS oder bei der Zöliakie beschrieben, bei der die Antikörper zu neurologischen und kognitiven Beeinträchtigungen führen können (1). Es gibt jedoch auch Autoantikörper, bei denen bisher keine eindeutige pathogene Rolle festgestellt werden konnte, wie etwa bei der Multiplen Sklerose oder bei der Narkolepsie (1, 15). Darüber hinaus gibt es auch Antikörper, bei denen eine mögliche pathogene Rolle umstritten ist, wie etwa bei Antikörpern gegen die Glutamat Decarboxylase (GAD) bei GAD-Antikörper-assoziierten Ataxien (16). Entscheidend für den Nachweis einer Pathogenität ist das Verständnis des vom Antikörper vermittelten Effektormechanismus (2).

Einige Autoantikörper konnten auch bei einer Subgruppe von gesunden Kontrollen nachgewiesen werden und zwar oftmals bei niedrigeren Titer-Werten der Antikörper. Bei gesunden Kontrollen haben ZNS-reaktive Antikörper jedoch keine erkennbare Auswirkung, da die Penetration in das Gehirngewebe hier begrenzt ist und Immunglobuline nur in sehr geringen Mengen in das ZNS gelangen können. Auch wurde kürzlich zum ersten Mal eine positive Funktion von einem ZNS-reaktiven Autoantikörper in Abwesenheit von einer Entzündung beschrieben. Abhängig von der Konzentration im Blut und vom Vorliegen einer Entzündung kann der NMDA Rezeptor Antikörper GluN1 zu einer Enzephalitis führen oder auch beim Fehlen einer zugrundeliegenden Erkrankung mit der Verringerung einer Depression und von Angstzuständen verbunden sein, wenn es durch chronischen Stress zu einer erhöhten Sekretion des Antikörpers kommt (17).

Neben der Konzentration der Antikörper im Blut sind auch ihre Zielstrukturen entscheidend, die sich sowohl außen auf der Zelle als auch in ihrem Inneren befinden können (18). Bei Autoantikörpern, die sich gegen intrazelluläre Antigene richten, wie zum Beispiel bei den klassischen paraneoplastischen Erkrankungen, wird autoreaktiven T-Zellen eine zentrale Rolle zugeschrieben, wobei diese Antikörper, wie etwa anti-Hu Antikörper, oftmals als nicht-pathogen

bezeichnet werden (2, 3). Darüber hinaus gibt es aber auch Antikörper, die intrazellulär binden und zusätzlich auch mit einem extrazellulären Antigen kreuzreagieren können (5). Antikörper, die extrazelluläre Antigene binden, werden im Unterschied zu Antigenen, die intrazelluläre Antigene binden, häufiger als pathogen beschrieben bzw. es wird ihnen auch eine krankheitsauslösende Rolle zugeschrieben. Dies ist zum Beispiel bei der NMOSD der Fall, bei der Antikörper gegen das Wasserkanal Protein Aquaporin-4 (AQP4) bei ungefähr 80 % der Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden können (8, 19). ZNS-reaktive Antikörper, die im peripheren Blut gebildet werden, müssen in ausreichenden Mengen in das ZNS gelangen, damit sie an ihr Antigen(e) binden können. Die Ursache für eine Störung der Blut-Hirnschranke wurde bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen untersucht, ist jedoch nach wie vor weitgehend ungeklärt, was auch die Auswahl eines für die Erkrankung geeigneten Tiermodells erschwert. Bei entzündlichen Erkrankungen des ZNS, wie etwa der Multiplen Sklerose oder der NMOSD, vermutet man, dass enzephalitogene und gegenüber dem ZNS reaktive T-Zellen eine entscheidende Rolle dabei spielen könnten. Dabei konnten auch *post mortem* entzündliche Zellen bei histopathologischen Studien der betroffenen Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden (20). Im Unterschied dazu können bei der NPSLE meist keine entzündlichen Zellen im ZNS gefunden werden, weshalb hier vermutlich eine Störung der Blut-Hirn-Schranke wahrscheinlich durch andere Faktoren ausgelöst wird (21). Eine Störung der Blut-Hirnschranke kann durch eine Reihe von Faktoren ausgelöst werden, wie zum Beispiel das Vorhandensein von schädlichen Bakterien, Drogen oder Stress (1). Bei einigen Autoantikörpern wird auch darüber diskutiert, ob sie auch ohne eine zugrundeliegende Störung der Blut-Hirnschranke in das ZNS-Gewebe gelangen können (22). Bei der NMOSD wird vermutet, dass die AQP4-Antikörper auch über die zirkumventrikulären Organe in das ZNS gelangen können, wie etwa die Area postrema (22).

Wenn pathogene Antikörper in das ZNS gelangen, dann gibt es zwei mögliche Szenarien, wie sie zu über Antikörper-vermittelten Funktionsstörungen führen können (1). Zum einen kann vor allem bei einer frühzeitigen Behandlung der Patienten und Patientinnen der schädigende Effekt der Autoantikörper reversibel sein. Dies ist zum Beispiel bei der limbischen Enzephalitis oftmals der Fall, wenn die Antikörper gegen Zelloberflächenrezeptoren gerichtet sind, wie zum Beispiel den Kaliumkanalkomplex (engl. voltage gated potassium channel complex, VGKC-Komplex). Dabei handelt es sich vor allem um die Antikörper gegen das Leucine-rich glioma-inactivated protein 1 (LG1) oder der N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) Untereinheit GluN1 (1). Zum anderen können Antikörper zu irreversiblen Schädigungen führen, die sich fortsetzen können, auch wenn die Autoantikörper nicht mehr im ZNS nachweisbar sind. Bei Patienten und Patientinnen mit einem neuropsychiatrischen Lupus und kognitiven Störungen konnte man zeigen, dass es dabei zu einer

durch Antikörper vermittelten Pathologie kommen kann. Diese Pathologie kann dann durch dsDNA Antikörper verursacht werden, die eine Kreuzreaktivität gegenüber der NMDA Rezeptor Untereinheit GluN2A/GluN2B aufweisen (5). Dies kann zu chronischen Schädigungen der Neuronen führen, die sich auch dann fortsetzen können, wenn die Antikörper nicht mehr vorhanden sind (1, 23).

Das Verständnis von verschiedenen durch Antikörper vermittelten Erkrankungen hat sich in den letzten Jahren bei neurologischen Erkrankungen dramatisch weiterentwickelt. Viele dieser Autoantikörper können bei Erwachsenen, Jugendlichen und Kindern auftreten. Die Erkrankungen können dabei im Kindesalter einen anderen Verlauf nehmen. So konnte man zum Beispiel zeigen, dass durch MOG-Antikörper vermittelte Erkrankungen bei Kindern mit einer besseren Prognose verbunden sind und die Kinder im Vergleich mit Erwachsenen ein geringeres Risiko für einen erneuten Krankheitsschub haben (24). Im Unterschied zur Rolle der gegenüber dem Gehirn reaktiven Antikörper bei Erwachsenen und Kindern sind der Einfluss der verschiedenen gegenüber dem Gehirn reaktiven Antikörper während der Schwangerschaft auf die embryonal-fetale Gehirnentwicklung und dessen langfristige Auswirkungen in vielen Hinsichten noch unerforscht.

A.2 Zielsetzungen der für die Habilitation relevanten Arbeiten

Das übergeordnete Ziel der für die vorliegende Habilitation relevanten Arbeiten bezieht sich auf eine Analyse der Rolle von Autoantikörpern, die gegen verschiedene Gehirnproteine gerichtet sind, bei neuroimmunologischen und systemisch-entzündlichen Erkrankungen aus dem rheumatologischen Formenkreis. Dabei wurden vor allem die Rollen der AQP4-Antikörper bei *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen (engl. neuromyelitis optica spectrum disorder, NMOSD) und der MOG Autoantikörper bei mit MOG IgG assoziierten Erkrankungen untersucht, um dabei grundlegende Erkenntnisse über die Immunopathogenese dieser Erkrankungen gewinnen und auch die Überlappung mit dem neuropsychiatrischen Lupus besser verstehen zu können. Im Vergleich mit betroffenen erwachsenen Patienten und Patientinnen wurde auch die Rolle von MOG-Antikörpern bei Kindern näher analysiert. Über die Bedeutung der Autoantikörper als Biomarker hinaus wurde eine durch Antikörper vermittelte Pathogenität genauer untersucht und hinsichtlich therapeutischer Prinzipien beleuchtet: Thema A3.1 Rolle der Antikörper bei den *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen, Thema A3.2 Rolle der Antikörper bei mit MOG-IgG assoziierten Erkrankungen und Thema A3.3 Antikörper bei einer neuropsychiatrischen Beteiligung des SLE.

Außerdem wurde eine Beeinträchtigung der Gehirnentwicklung des ungeborenen Kindes bei Autismus-Spektrum-Störungen durch mütterliche und gegenüber dem Gehirn-reaktive Antikörper genauer analysiert. Dabei wurde eine neue Technologie etabliert, um ZNS-reaktive monoklonale Antikörper von Müttern zu generieren, deren Kinder an einer Autismus-Spektrum-Störung erkrankt waren. Dabei bestand das Ziel darin, die Rolle und die Häufigkeit eines neuentdeckten mütterlichen Antikörpers im Rahmen der Pathogenese zu untersuchen. Außerdem sollte ermittelt werden, wie häufig diese Antikörper im Plasma der Mütter von Kindern mit einer Autismus-Spektrum-Störungen nachgewiesen werden können: Thema A3.4: ZNS- reaktive Antikörper während der Schwangerschaft.

Die Zielsetzungen der für die vorliegende Habilitation relevanten Originalarbeiten beziehen sich auf diese Fragestellungen:

⇒ **Die Rolle von ZNS-reaktiven Antikörpern als Biomarker bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen und ihre Krankheitsrelevanz**

- Welche Rolle haben AQP4-Antikörper als Biomarker und bei der Krankheitspathogenese der NMOSD?
- Welche Bedeutung haben MOG-Antikörper bei den durch MOG-Antikörper vermittelten Erkrankungen bei Erwachsenen und im Kindesalter?
- Durch welche Antikörper kann man eine NMOSD von einem neuropsychiatrischen Lupus abgrenzen?

⇒ **Die Rolle von ZNS-reaktiven Antikörpern während der Schwangerschaft**

- Welche Rolle spielen maternale ZNS-reaktive Autoantikörper bei den Autismus-Spektrum-Störungen?

⇒ **Zusammenfassung und Ausblick**

- Welche Strategien können zukünftig für die Analyse der ZNS-reaktiven Antikörper verwendet werden?
- Die Bedeutung weiterer neuartiger ZNS-reaktiver Autoantikörper (z. B. bei der seronegativen NMOSD, bei ADEM und dem neuropsychiatrischen Lupus).

A.3 Ergebnisse und Diskussion der für die Habilitation relevanten Arbeiten

A.3.1 Rolle der Antikörper bei den *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen (NMOSD)

A.3.1.1 Bedeutung der AQP4-Antikörper als Biomarker

Bei den *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen (NMOSD) handelt es sich um eine Gruppe seltener chronisch-entzündlicher Erkrankungen des zentralen Nervensystems, die typischerweise den Sehnerv und das Rückenmark, aber auch das Gehirn und den Hirnstamm betreffen können (25). Klassischerweise treten bei den Patienten und Patientinnen langstreckig-spinale MRT-Läsionen (T2w) mit einer Ausdehnung der Demyelinisierung über mindestens drei Wirbelsegmente auf (LETM; longitudinally extensive transverse myelitis) (25, 26). Die AQP4-IgG Antikörper im Serum der Patienten und Patientinnen haben sich als wichtige Biomarker für eine Diagnose der NMOSD erwiesen (8). Vor allem zu Erkrankungsbeginn kann die NMOSD klinisch der Multiplen Sklerose (MS) oder anderen demyelinisierenden Erkrankungen ähneln. Eine frühzeitige Abgrenzung zur MS ist aber besonders wichtig, da dies mit einer gezielten Behandlung verbunden ist, die sich in unterschiedlichen Hinsichten von den Therapieansätzen der klassischen MS unterscheidet (27). Mit einem zellbasierten Assay (CBA; cell based assay) unter der Verwendung von mit AQP4 transfizierten Zellen war ein sehr spezifischer und sensitiver Nachweis dieser Autoantikörper im Blut und Serum der Patienten und Patientinnen möglich (28, 29). Dieser Assay wird mit Durchflusszytometrie oder Immunohistochemie erstellt. Im Unterschied zum ELISA wird dabei die intakte Struktur des Membranantigens weitgehend beibehalten und eine unspezifische Bindung wird dadurch ausgeschlossen, dass Zellen mit dem grünen Fluoreszenzprotein (ohne Antigen) als Kontrolle verwendet werden.

AQP4 ist ein Wasserkanal Protein, das sich in den Endfüßen von Astrozyten findet und von dem zwei verschiedene Isoformen exprimiert werden (M1 und M23 AQP4) (30, 31). Die Isoform M1 AQP4 beginnt dabei mit Methionin-1 als Translationsstart, während die kürzere Isoform M23 AQP4 bei der Translation mit Methionin 23 beginnt (31).

Da die Rolle dieser beiden Isoformen für die Bindung der Antikörper bei den Patienten und Patientinnen nicht bekannt war, wurde sie von uns bei einer größeren Kohorte von Patienten und Patientinnen analysiert (32) (Tabelle 1). Dabei wurde die Bindung von Antikörpern bei Patienten und Patientinnen mit einer NMO (n = 30), einem hohen Risiko für NMO (n = 26), bei MS (n = 101), einem klinisch isolierten Syndrom (CIS, n = 27), einem systemischen Lupus/Sjögren (SLE/SS, n

= 30), bei anderen neurologischen Erkrankungen (OND, n = 29) und auch bei gesunden Kontrollen (n = 47) untersucht.

Die Sensitivität des neu entwickelten Nachweisverfahrens für AQP4-Antikörper (zellbasierter Assay) lag bei der Verwendung der kürzeren AQP4 Isoform (M23 AQP4) bei 97 % für NMO und bei 65 % bei Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko für eine NMO (High Risk NMO). Darüber hinaus erreichte der Assay insgesamt eine Spezifität von 100 %. Die Sensitivität war allerdings deutlich geringer bei der Verwendung der Vollängen M1-AQP4 Isoform und lag bei 70 % für NMO und bei 39 % bei Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko für eine NMO (Tabelle 1). Damit konnten wir zeigen, dass sich die Reaktion des Antikörpers primär gegen die konformationelle Epitope der M23 AQP4 Isoform richtet. Die Antikörper gegen M1 AQP4 werden erst mit zunehmender Krankheitsdauer und einer ansteigenden Anzahl von Krankheitsschüben gebildet.

AQP4	NMO	High risk NMO	MS	CIS	SLE/SS	OND	HC	p-value
Number	30	26	101	27	30	29	47	
Females	29 (97%)	16 (62%)	65 (64%)	21 (78%)	27 (90%)	20 (69%)	39 (83%)	0.001 ²
Age (y) ¹	49 (18–80)	49 (26–75)	40 (16–68)	35 (19–63)	41 (22–92)	44 (18–84)	43 (21–68)	0.001 ³
M-23 IgG	29 (97%) *#	17 (65%) *	0 (0%)	1 (4%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	<0.001 ²
M-23 IgG Titer (1:) ¹	2,560 (160–20,480)	1,280 (40–10,240)	-	640	320	-	-	
M-1 IgG	21 (70%) *	10 (39%) *	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	<0.001 ²
M-1 IgG Titer (1:) ¹	160 (40–5,120)	80 (20–2,560)	-	40	-	-	-	
M-23 IgM	8 (27%) *	3 (12%)	4 (4%)	1 (4%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)	<0.001 ²
M-23 IgM Titer (1:) ¹	40 (20–80)	80 (20–80)	50 (20–80)	20	-	20	-	
M-1 IgM	3 (10%)	2 (8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0.001 ²
M-1 IgM Titer (1:) ¹	40 (20–40)	30 (20–40)	-	-	-	-	-	

¹data are shown as median (range), p-value: groups were compared using ² Chi-Square test and ³ Kruskal-Wallis test and Dunn's multiple comparison post-hoc test, *statistically different from HC group at p<0.01, # statistically different from high risk NMO group at p<0.01. Abbreviations: n = number of patients, y = years. doi:10.1371/journal.pone.0010455.t001

Tabelle 1: aus Mader et al. 2010, Plos One. Nachweis der Bindung der Serum-Antikörper an M23 und M1 AQP4 exprimierende Zellen bei verschiedenen Krankheitsgruppen und gesunden Kontrollen (32). Bei der Verwendung der M23 AQP4 Isoform konnten AQP4-IgG Antikörper bei 29 von 30 NMO Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden und bei 17 von 26 Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko einer NMO. Der Assay erreichte damit eine Sensitivität von 97 % für NMO und von 65 % bei Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko einer NMO. Details dazu finden sich in (32).

Da zu dem Zeitpunkt unserer erweiterten Studie nur wenige Informationen über AQP4-Antikörper im CSF vorlagen, entschlossen wir uns die AQP4-IgG Titer Verläufe bei 12 NMOSD Patienten und Patientinnen in gepaarten CSF und Serum Proben zu analysieren und sie mit verschiedenen

klinischen Parametern zu korrelieren (33). In unserer Studie konnten AQP4-IgG Antikörper nur im CSF nachgewiesen werden, wenn die gepaarten Serum Titer für AQP4-IgG $\geq 1:320$ waren. Nur bei zwei Patienten war eine intrathekale AQP4-IgG Produktion nachweisbar. Wir konnten auch zeigen, dass die Titer von AQP4-IgG im CSF mit der Krankheitsaktivität korrelieren. Eine Verbesserung des EDSS (Expanded Disability Status Scale) war mit einer Reduktion von CSF AQP4-IgG Titern assoziiert, wobei es dann im gepaarten Serum entweder auch zu einer Reduktion der Titer kam oder keine Änderung der AQP4-IgG Titer nachweisbar war. Die AQP4-IgG Titer im CSF korrelierten mit der Länge der spinalen MRI Läsionen und mit einigen CSF Parametern. Eine klinische Verbesserung war mit einer Reduktion der AQP4-IgG Titer im CSF, aber nicht im Serum assoziiert. Daher waren die CSF AQP4-IgG Titer auch mit der klinischen Aktivität und einer Neuroinflammation verbunden (Abbildung 1).

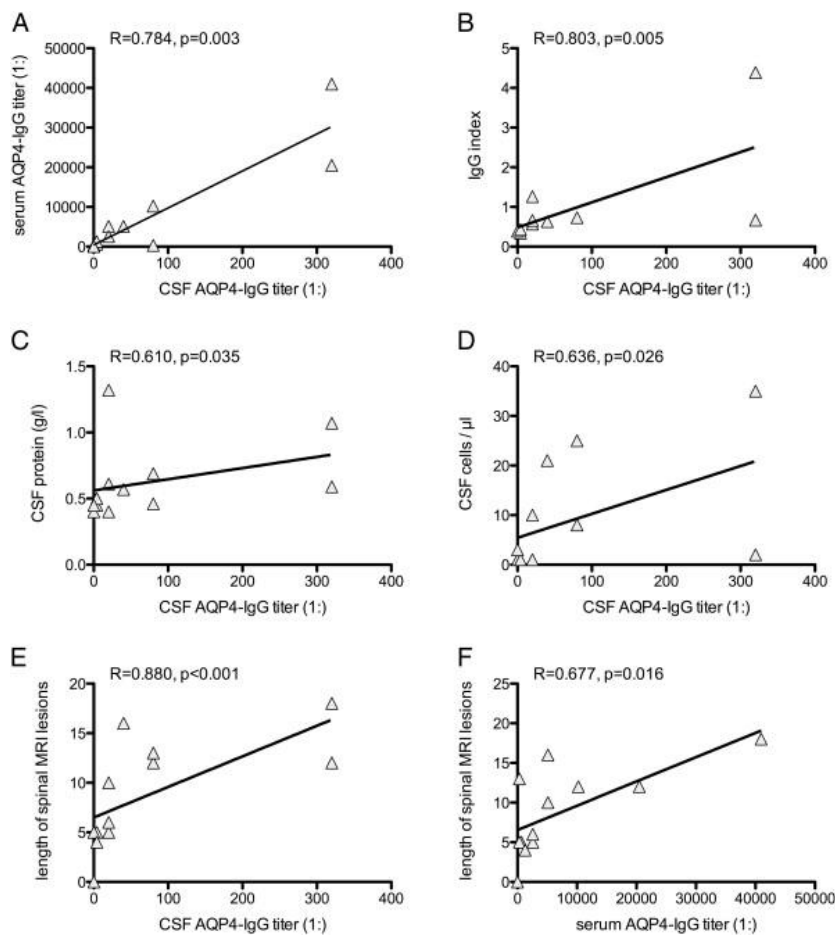


Abbildung 1: aus Dujmovic* & Mader* et al. 2011, Journal of Neuroimmunology. Korrelation der CSF AQP4-IgG Titer mit CSF und klinischen Parametern bei Patienten und Patientinnen mit einer NMOSD. Korrelation von CSF AQP4-IgG Titern und (A) Serum AQP4-IgG Titern, (B) IgG Index, (C) CSF Protein Werten, (D) Zellzahl im CSF, (E) Länge der spinalen MRI Läsionen. (F) Korrelation von Serum AQP4-IgG Titern und Länge der spinalen MRI Läsionen. Details dazu finden sich in (33).

In einer weiteren Studie haben wir den klinischen und immunologischen Effekt einer Rituximab Behandlung bei Patienten und Patientinnen mit einer NMOSD und einer langstreckigen Myelitis (LETM) analysiert (34). Rituximab ist ein chimärer und gegen CD20 gerichteter monoklonaler Antikörper, der CD20-positive B Zellen angreift und entfernt. Eine B-Zell-Depletion führte zu einer grundlegenden klinischen Stabilisierung bei allen von uns analysierten NMOSD Patienten und Patientinnen, wobei sich die Titer Werte der Antikörper gegen AQP4 und MOG, die Immunoglobulin Subtypen und die IgG Subtyp Verteilung auch nach einer langfristigen B-Zell Depletionstherapie nicht verändert haben (Abbildung 2). Krankheitsschübe waren dabei nicht mit repopulierenden B-Zellen, Serumspiegeln von BAFF oder AQP4-IgG Titern verbunden. Die BAFF-Werte haben sich im Verlauf der Rituximab Behandlung erhöht.

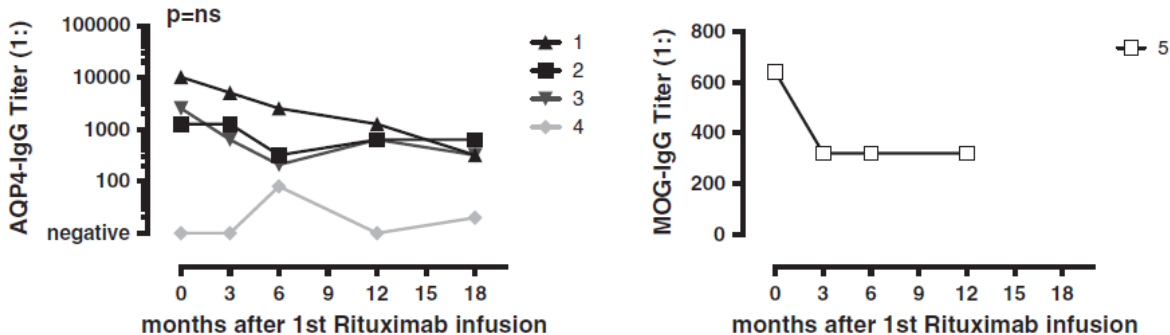


Abbildung 2: aus Gredler* & Mader* et al. 2013, Journal of Neurological Sciences. Effekt einer Rituximab Behandlung auf Serum Autoantikörper Verläufe. Serum AQP4-IgG (linke Abbildung) und MOG-IgG Titer (rechte Abbildung) bei NMOSD Patienten und Patientinnen, die zu verschiedenen Zeitpunkten mit Rituximab behandelt wurden (Baseline, 2 Monate, 6 Monate, 12 Monate und 18 Monate). Details dazu finden sich in (34).

Durch eine bundesweite Zusammenarbeit zwischen Neurologen und Neurologinnen aus Österreich konnte ein Netzwerk aufgebaut werden, in dem 71 AQP4-Antikörper positive NMO/NMOSD Patienten und Patientinnen untersucht wurden (35). Die Antikörperwerte für AQP4 wurden alle in Innsbruck in einem einzigen Referenz-Zentrum von uns gemessen. Unter Berücksichtigung des Auftretens der ersten Symptome für NMO/NMOSD und nicht einer bereits gestellten Diagnose konnten wir eine jährliche Inzidenzrate von 0.054 für die NMO/NMOSD berechnen, woraus sich eine Prävalenzrate von 0.71 pro 100000 ergab. In unserer Studie lag der Anteil der Frauen gegenüber den Männern bei 7 zu 1 (62 Frauen und 9 Männer), wobei 87 % der Patienten und Patientinnen einen rezidivierenden Verlauf hatten. Bei den monophasischen Verläufen lag der Beobachtungszeitraum bei weniger als 20 Monaten, was zu kurz war, um eine

endgültige Schlussfolgerung ziehen zu können. Alle Patienten und Patientinnen mit zusätzlichen begleitenden Autoimmunerkrankungen oder zusätzlichen Autoantikörpern waren weiblich. Dabei hatten 7 % der Patienten und Patientinnen einen Lupus und 3 % eine *Myastenia gravis*.

Zusätzlich konnten wir auch Erkrankungen nachweisen, die erst vor kurzem in einem Zusammenhang mit einer NMOSD beschrieben wurden, wie zum Beispiel eine akute Schwerhörigkeit oder ein spät einsetzender Typ-I *Diabetes mellitus* mit anti-GAD Antikörpern.

Bei unserer Kohorte von Patienten und Patientinnen verlief der Erkrankungseintritt sehr unterschiedlich. Bei 41 von 71 Patienten und Patientinnen begann die Erkrankung in einem Alter von 50 Jahren oder darüber.

Wir konnten bei den Patienten und Patientinnen keine chronische Krankheitsverschlechterung beobachten. Eine Verschlechterung des EDSS wurde durch neue Schübe verursacht und war mit dem Auftreten von fokalen Läsionen verbunden.

Im Unterschied zur MS wurden bei der NMOSD seltener oligoklonale Banden (OCB) gefunden. Bei unserer Studie waren die OCBs bei 58 von 67 Patienten und Patientinnen negativ.

A.3.1.2 Die Rolle der AQP4-Antikörper bei der Pathogenese der NMOSD

Über die Rolle von AQP4-IgG Antikörpern als Biomarker für eine NMOSD hinaus waren wir vor allem an ihrer pathogenen Relevanz für die Erkrankung interessiert. Aufgrund der Beobachtung, dass AQP4-IgG Antikörper hauptsächlich als Isotyp IgG1 vorkommen der Komplement aktivieren kann, haben wir die AQP4-IgG vermittelte Komplement-Aktivierung genauer analysiert (36).

Wir konnten zeigen, dass AQP4-Antikörper in unserem *in vitro* Zellkultur Modell unter der Verwendung von AQP4 transfizierten Zellen und der Zugabe von humanem Komplement zu einer Komplement-Aktivierung führen (CDC; Complement-Dependent Cytotoxicity) (Abbildung 3).

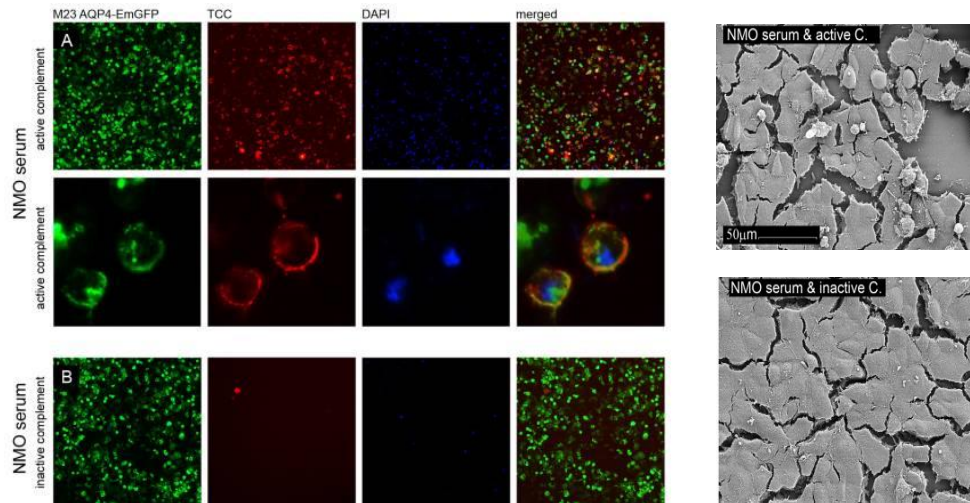


Abbildung 3: aus Mader et al. 2011, J Neuroinflammation: Nachweis einer AQP4-IgG vermittelten Komplementaktivierung. Serum AQP4-IgG Antikörper eines NMOSD Patienten führten bei der Zugabe von humanem Komplement zur Aktivierung der Komplement-Kaskade und zur Bildung des terminalen Komplement-Komplexes (C5b-9, TCC rot) auf den AQP4 transfizierten Zellen (grün). Bei der Zugabe von inaktivem Komplement kam es dagegen nicht zur Bildung von TCC. Die Antikörper führten auch in den Kontrollzellen nicht zu einer Komplement-Aktivierung. NMO Serum mit einer Zugabe von aktivem Komplement führte außerdem zur Apoptose der Zellen (elektronenmikroskopische Aufnahme). Details dazu finden sich in (36).

Da unsere *in vitro* Versuche zur Analyse der Effektormechanismen von AQP4-Antikörpern auf eine mögliche Pathogenität dieser Antikörper hinwiesen und zwar vor allem in einer Verbindung mit einer durch Komplement vermittelten Zytotoxizität (36), wollten wir dies gemeinsam mit der Gruppe von Univ.-Prof. Dr. Hans Lassmann und Assoc. Prof. Dr. Monika Bradl am Zentrum für Hirnforschung in Wien im Tiermodell der MS genauer analysieren (37). Dafür haben wir IgG Antikörper aus dem Plasmapheresat von NMOSD Patienten und Patientinnen gereinigt und in Lewis Ratten injiziert, bei denen eine experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE, T-cell-mediated experimental autoimmune encephalomyelitis) ausgelöst wurde. Die Antikörper der NMOSD Patienten und Patient/innen konnten wegen der durch die autoreaktiven T-Zellen verursachten Störung der Blut-Hirnschranke in das ZNS gelangen und führten dort zu ZNS-Läsionen, die denen der Patienten und Patient/innen mit einer NMOSD ähnlich waren. Dabei kam es zu einem Abbau der Astrozyten und einem damit verbundenen AQP4 Verlust (Abbildung 4). Außerdem kam es zu einer Infiltration von Granulozyten, T-Zellen und aktivierten Makrophagen/Mikroglia und einer starken Ablagerung von Immunoglobulinen und Komplement an den Fortsätzen von Astrozyten an der perivaskulären und superfizialen *Glia limitans*. Da wir für diesen Versuch gereinigtes IgG von Patienten und Patientinnen verwenden mussten, war ein

Nachweis nötig, dass diese Pathologie durch AQP4-IgG verursacht wurde und nicht durch zusätzlich im Plasmapherisat enthaltene schädliche Immunoglobuline. Deshalb führten wir einen Absorptionsversuch der IgG Antikörper mit AQP4 exprimierenden Zellen durch (Abbildung 5).

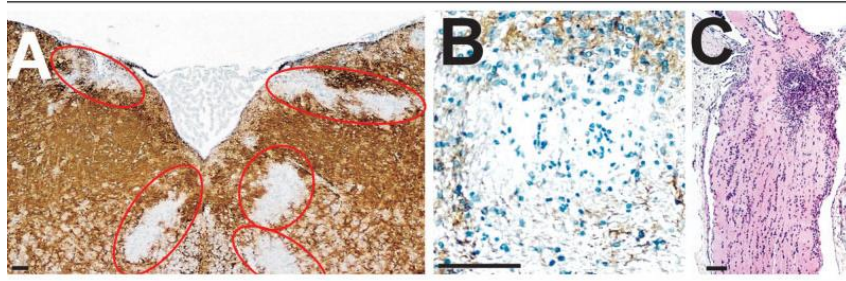


Abbildung 4: aus Bradl et al. 2009, Ann Neurol.: AQP4-IgG vermittelte Pathologie im EAE Tiermodell. AQP4 Färbung der entzündlichen Läsionen der Tiere, denen AQP4-IgG injiziert wurde. Es kam zu einem starken Verlust von AQP4 in

der Medulla (A) und im optischen Chiasma (B). Dies war auch durch eine massive Entzündung im optischen Sehnervkopf ersichtlich (C). Details dazu finden sich in (37).

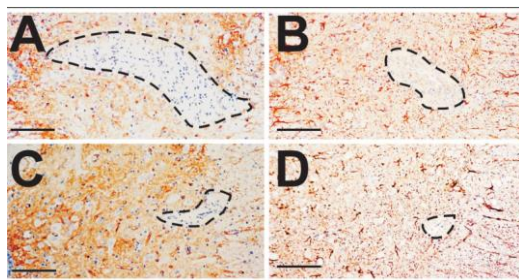


Abbildung 5: aus Bradl , [...] und Mader et al. 2009, Ann Neurol.: Nachweis, dass AQP4-IgG von NMOSD Patienten und Patientinnen zu einem Verlust der AQP4 Reaktivität im Gewebe führen. Nach einer Absorption der NMO IgG Antikörper mit AQP4 exprimierenden Zellen war der Verlust von AQP4 (A, C) im Vergleich mit der Absorption von EmGFP Fusionsprotein exprimierenden Kontroll-Zellen (A,B) und von GFAP (B) im

Gewebe stark reduziert (C, D). Details dazu finden sich in (37).

A.3.2 Rolle der Antikörper bei durch MOG-IgG assoziierten Erkrankungen (MOGAD)

Die Etablierung von neuartigen zellbasierten Antikörper-Detektionsmethoden, die zum Beispiel für den AQP4-IgG Nachweis verwendet werden konnten, ermöglichten den Nachweis von Antikörpern gegen natives korrekt gefaltetes und glykosyliertes MOG (38). In den Jahren vorher wurde über die Rolle der MOG-Antikörper bei MS und assoziierten Erkrankungen kontrovers diskutiert (39-42), was weitgehend auf methodische Probleme bei der korrekten Faltung dieses Autoantigens zurückzuführen ist. O'Connor et al., konnten erstmals zeigen, dass MOG-Antikörper bei Patienten und Patientinnen mit einer akuten disseminierten Enzephalomyelitis (ADEM) vorkommen(38). Einige tierexperimentelle optikospinale EAE Studien mit für MOG spezifischen T- und B-Zell-Rezeptoren wiesen darauf hin, dass eine Autoimmunantwort gegen das MOG Protein zu NMOSD-ähnlichen Erkrankungen führen kann (43). Bei einer Gruppe von Patienten und Patientinnen mit einer NMOSD (5-40 %) konnten keine AQP4-IgG Antikörper nachgewiesen werden (32). Bei diesen Patienten und Patientinnen fehlten bisher diagnostische Biomarker,

weshalb erstmals MOG als ein mögliches Autoantigen für die NMOSD analysiert werden sollte (36). Dabei wurden Patienten und Patientinnen mit einer NMO (n = 45), einem hohen Risiko für eine NMO (n = 53), einem ADEM (n = 53), einem klinischen isolierten Syndrom (KIS, engl. CIS) wie einer Myelitis oder einer Optikusneuritis (n = 32), einer MS (n = 71) und einigen Kontrollen (n = 101, 24 andere neurologische Erkrankungen, OND; 27 Patienten und Patientinnen mit einem systemischen *Lupus erythematoses*-SLE und 50 gesunden Kontrollen) auf das Vorhandensein von MOG-IgG und AQP4-IgG Antikörper untersucht. Für den Nachweis wurde ein lebend-zellbasierter Immunofluoreszenz Assay verwendet. Wir konnten dabei erstmals zeigen, dass bei einigen Patienten und Patientinnen mit einem NMO und einem hohen Risiko für eine NMO Antikörper gegen MOG in hohen Titer Werten auftraten. Diese Patienten und Patientinnen waren alle AQP4-IgG seronegativ. MOG-IgG konnte in beiden AQP4-IgG seronegativen NMO Patienten nachgewiesen werden und bei 7 von 21 AQP4-IgG seronegativen Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko einer NMOSD (Abbildung 6). Bei den AQP4 und MOG-Antikörpern handelt es sich hauptsächlich um Antikörper der IgG1 Subklasse, die im Zellkulturmodell zu einer Komplement-Aktivierung führen können.

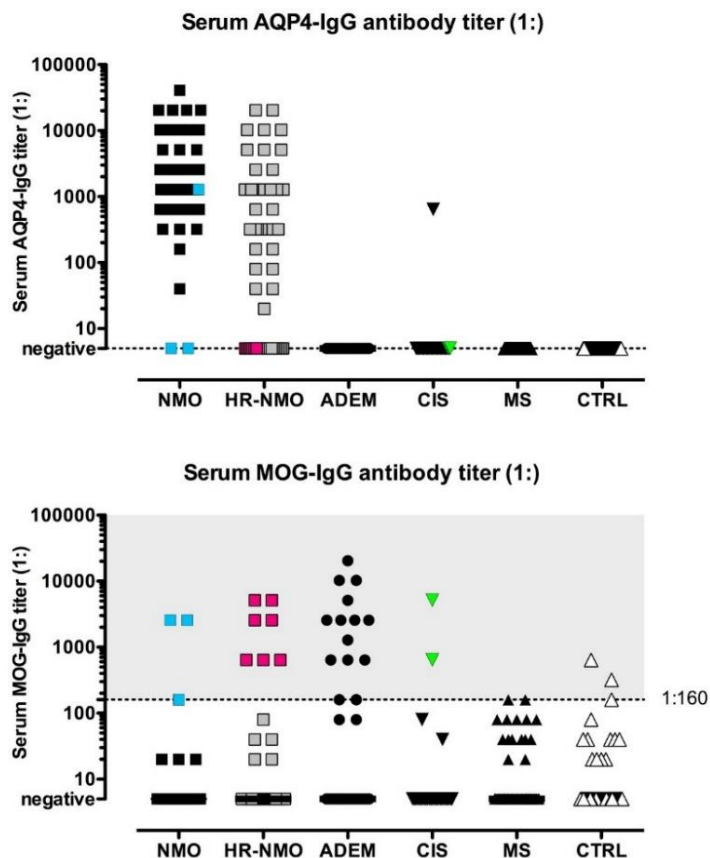


Abbildung 6: aus Mader et al. 2011, Journal of Neuroinflammation. Nachweis von Serum MOG-IgG und AQP4-IgG Antikörpern bei ZNS demyelinisierenden Erkrankungen mit einem zellbasierten Assay. Serum AQP4-IgG konnten wir ausschließlich bei Serum Proben von Patienten und Patientinnen mit NMO und einem hohen Risiko für NMO (HR-NMO) und bei einem Patienten mit einem klinischen isolierten Syndrom (CIS) nachweisen. Alle Patienten mit ADEM, MS und alle Kontrollen waren AQP4-IgG seronegativ. Serum MOG-IgG wurden in hohen Titern ($\geq 1:160$) bei einer Gruppe von Patienten und Patientinnen mit ADEM, AQP4-IgG seronegativen NMO und bei Patienten und Patientinnen mit einem hohen Risiko für eine NMO nachgewiesen und bei 2 CIS und 2 Kontrollen gefunden. Diese Antikörper konnten unter dem cut-off von 1:160 in allen Gruppen nachgewiesen werden. Details dazu finden sich in (36).

MOG-Antikörper wurden ursprünglich bei Kindern und jugendlichen Patienten und Patientinnen mit einem ADEM und einer MS nachgewiesen (38). Da es zum Zeitpunkt unserer Studie keine Langzeitstudien zu den MOG-IgG Verläufen gab, untersuchten wir die MOG-IgG Antikörper Titer im Serum und CSF bei 266 pädiatrischen und erwachsenen ADEM Patienten und Patientinnen, bei CIS, MS, anderen neurologischen Erkrankungen und gesunden Kontrollen und bei 25 Patienten und Patientinnen mit ADEM, CIS, MS und anderen neurologischen Erkrankungen, um die Langzeitverläufe der MOG-IgG Titer zu bestimmen (Tabelle 2) (44).

BL	ADEM	ADEM	CIS	CIS	MS	OND
FU	Full recovery	Incomplete recovery	CIS	MS	MS	OND
Patients	4	6	2	2	9	2
Females	3 (75%)	3 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	5 (56%)	1 (50%)
Age (y) BL ¹	5 (2–10)	10 (2–47)	13–40	19–22	43 (27–65)	14–74
FU (m) ¹	9 (6–63)	17 (4–69)	20–36	12–30	30 (6–63)	18–24
<i>Anti-MOG IgG antibodies</i>						
Titer BL ¹	2560 (1280–10,240)	2560 (640–20,480)	40–640	20	40 (20–80)	40–640
Titer FU ¹	320 (40–640)	2560 (640–5120)	0	0	40 (0–160)	80–2560
Positive BL	4 (100%)	6 (100%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)
Positive FU	3 (75%)	6 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (33%)	1 (50%)

¹Data are shown as median (range) or range. BL=baseline, FU=follow-up, ADEM=acute disseminated encephalomyelitis, CIS=clinically isolated syndrome, OND=other neurological disease, MS=multiple sclerosis, y=years, m=months.

Tabelle 2: aus Di Pauli* & Mader* et al., *Clinical Immunology*, 2011: MOG-IgG Verläufe bei Patienten und Patientinnen mit ADEM (mit vollständiger Genesung und unvollständiger Genesung, CIS, MS und anderen neurologischen Erkrankungen). Details dazu finden sich in (44).

Dabei konnten hohe MOG-IgG Antikörper Titer bei 15/34 (44 %) der ADEM Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden, aber nur selten bei CIS Patienten und Patientinnen (3/38, 8 %), bei MS (2/89, 2 %), bei anderen neurologischen Erkrankungen (1/58, 2 %) und bei keiner der gesunden Kontrollen (0/47). Bei der Untersuchung der Langzeitverläufe der Titer Werte ergaben sich unterschiedliche zeitliche MOG-Antikörper Verläufe bei ADEM, CIS und MS, wobei ein Abfall der Antikörper Titer mit einem günstigeren klinischen Verlauf verbunden war.

MOG-Antikörper wurden in unserer Studie hauptsächlich bei pädiatrischen Patienten und Patientinnen nachgewiesen, sie wurden aber bisher nicht bei pädiatrischen Patienten und Patientinnen mit einer Optikusneuritis (ON) untersucht. Deshalb wurden die MOG-IgG Antikörper bei 38 pädiatrischen Patienten und Patientinnen mit einer akuten ON Episode analysiert, wobei zusätzlich die klinischen Eigenschaften, MRI, die intrathekale IgG Synthese und das klinische Ergebnis betrachtet wurden (45) (Abbildung 7).

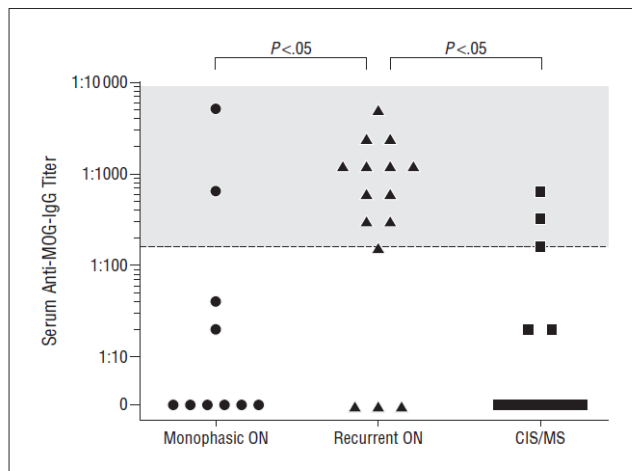


Abbildung 7: aus Rostasy, **Mader** et al., 2012, Archives of Neurology.

Serum MOG Antikörper Titer bei pädiatrischer Optikusneuritis. Im Vergleich zu Kindern mit einer monophasischen ON oder einer ON als Symptom einer CIS/MS waren MOG-IgG Antikörper in hohen Titern bei Kindern mit einer rezidivierenden ON nachweisbar. Details dazu finden sich in (45).

MOG-IgG Antikörper konnten in der vorliegenden Studie hauptsächlich bei pädiatrischen Patienten und Patientinnen mit einer rezidivierenden ON nachgewiesen werden. Diese Patienten und Patientinnen hatten entweder ein normales MRI, eine Schwellung des optischen Nervs oder ADEM-artige Läsionen.

Neben der Rolle als Biomarker und der immer deutlicher werdenden Abgrenzung von MOG-Antikörper assoziierten Erkrankungen (MOGAD)(46), war bei MOG-IgG nicht klar inwieweit diese zu pathologischen Schädigungen führen können. Wir konnten erstmals mit unserem Komplement Assay nachweisen, dass es nach der Bindung von MOG-Antikörpern, ähnlich wie bei AQP4-IgG, zu einer Komplementaktivierung kommen kann und dass dieser Antikörper vermittelte Effektor Mechanismen vermutlich eine Rolle bei MOGAD spielen dürfte(46).

A.3.3: Antikörper beim neuropsychiatrischen Lupus

Der systemische *Lupus erythematoses* (SLE) ist eine chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung, die durch das Vorhandensein von verschiedenen Autoantikörpern gekennzeichnet ist. Neuropsychiatrische Manifestationen eines SLE, (engl. neuropsychiatric SLE; NPSLE), können sehr schwerwiegend sein und die Diagnose bleibt meist herausfordernd.

Bei einer NPSLE gibt es eine Vielzahl von klinischen Präsentationen mit neurologischen und psychiatrischen Symptomen. NPSLE zeichnet sich durch 19 neuropsychiatrische Syndrome aus, die durch die American College of Rheumatology (ACR) Nomenklatur von 1999 definiert wurden (47). Nach der Literatur können bei einem sehr variablen Prozentsatz von 10- 90 % der SLE Patienten und Patientinnen neuropsychiatrische Symptome auftreten (48). Bisher wurden mehr als 100 verschiedene Autoantikörper bei Patienten und Patientinnen mit einem SLE oder einem NPSLE nachgewiesen (49). Von diesen bilden die Antikörper gegen doppelsträngige DNA (anti-dsDNA) und anti-nukleäre Antikörper (ANA) ein diagnostisches Kennzeichen von SLE, sie sind allerdings nicht spezifisch für diese Autoimmunerkrankung. In der Arbeitsgruppe von Dr. Diamond in New York konnte in Vorarbeiten gezeigt werden, dass bei einem Teil der NPSLE Patienten und Patientinnen Antikörper gegen die dsDNA mit dem NMDA-Rezeptor kreuzreagieren können (5). Sie erkennen die Aminosäuresequenz DWEYS, eine Konsensus Sequenz in der extrazellulären Domäne der GluN2A / GluN2B-Untereinheiten des neuronalen NMDA-Rezeptors und führen durch eine Exozitotoxizität zur Apoptose von Hippocampus-Neuronen und dadurch zu einer kognitiven Beeinträchtigungen im Mausmodell (2, 3, 50). Es gab allerdings bisher keine Studien, die sich mit der Rolle dieser Antikörper bei einer demyelinisierenden Form des NPSLE beschäftigt haben. Eine Demyelinisierung und dabei insbesondere eine ON und eine Myelitis können auch bei einem NPSLE nachgewiesen werden. Bei einigen Patienten und Patientinnen konnte zusätzlich zur NPSLE auch eine NMOSD diagnostiziert werden. Dabei kann sich eine NMOSD aus einer SLE entwickeln oder *vice versa* (51). Wegen der Ähnlichkeiten bei der Demyelinisierung ist es oft schwierig, festzustellen, ob eine Demyelinisierung ein Teil der Krankheitsaktivität von einem SLE oder von einer NMOSD ist oder von beiden Erkrankungen verursacht wird. Die NMOSD und der NPSLE haben viele gemeinsame Charakteristika, wie zum Beispiel einen überdurchschnittlich hohen Anteil an weiblichen Patienten und Patientinnen und ein positives Ansprechen auf immunsuppressive Therapieansätze. Genetische Studien (engl. whole-genome sequence study) konnten außerdem zeigen, dass eine AQP4-IgG positive NMOSD dem SLE ähnlicher ist als einer MS (52). Darüber hinaus konnten bei einer SLE und bei einer NMOSD Antikörper gegen dsDNA und ANA im Serum nachgewiesen werden, wobei dies bei der NMOSD bisher noch wenig untersucht wurde.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand daher darin, das Antikörperrepertoire bei NPSLE und insbesondere bei Patienten und Patientinnen mit einer demyelinisierenden Form des NPSLE und bei Patienten und Patientinnen mit einem NMOSD zu analysieren und dabei auch die Häufigkeit einiger gegenüber dem Gehirn reaktiver Antikörper genauer zu untersuchen und zwar vor allem der Antikörper, die mit NMOSD oder NPSLE assoziiert werden (53). Dabei wollten wir die Häufigkeit der Autoantikörper bei der NMOSD ermitteln, von denen gezeigt wurde, dass sie mit NPSLE assoziiert sind, wie etwa die dsDNA-Antikörper und ANAs und die anti-DWEYS-IgG (NMDA Rezeptor) Antikörper. Die Häufigkeit und das Färbungsmuster dieser gehirnreaktiven Antikörper wurden dann in einem Vergleich mit Patienten und Patientinnen mit einem SLE ohne neuropsychiatrische Manifestationen und gesunden Kontrollen bewertet (53). In dieser Studie wurde dabei das Serum von 108 NPSLE, 38 SLE ohne neuropsychiatrische Manifestation, 33 NMOSD und von 106 gesunden Kontrollen analysiert. AQP4-IgG Antikörper wurden mit zellbasierten Assays nachgewiesen und waren nachweisbar bei 27/33 (82 %) der NMOSD Erkrankten und bei 3/108 (3 %) der NPSLE Patienten und Patientinnen (53). MOG-Antikörper in hohen Titer Werten wurden bei 3 (50 %) der 6 AQP4-IgG seronegativen NMOSD Patienten und Patientinnen nachgewiesen und in niedrigen Titer Werten bei 2 (18 %) der 11 Patienten mit einem demyelinisierenden NPSLE und bei einem (1 %) von 97 Patienten und Patientinnen mit NPSLE ohne eine Demyelinisierung. Beide Antikörper wurden damit nur selten bei NPSLE Patienten und Patientinnen nachgewiesen, sollten aber nach unserer Studie beim Auftreten einer Demyelinisierung getestet werden. Während Antikörper gegen dsDNA charakteristisch für NPSLE/SLE Erkrankungen sind, konnte sie in der vorliegenden Studie auch bei 11 (33 %) von 33 NMOSD Patienten und Patientinnen nachgewiesen werden. Im Unterschied zum NPSLE kommt es bei NMOSD jedoch zu keiner Kreuzreaktivität der dsDNA Antikörper mit den NMDAR Untereinheiten (engl. subunits) GluN2A und GluN2B (Abbildung 8).

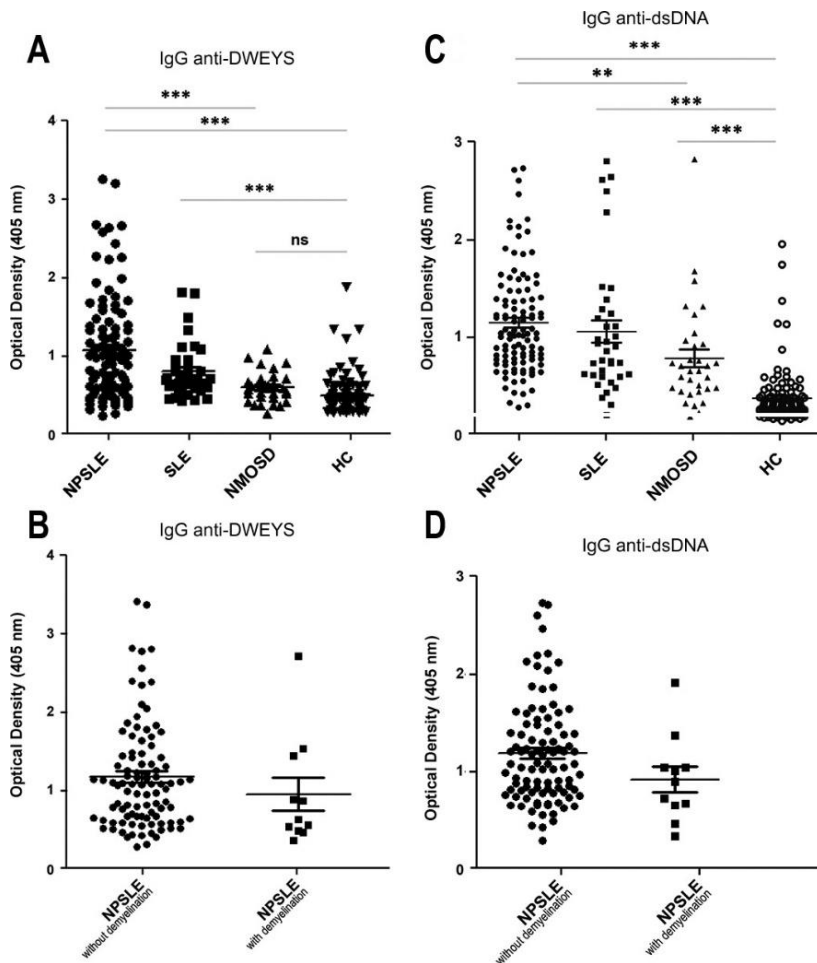


Abbildung 8: aus Mader et al., 2018, Arthritis & Rheumatology.

Nachweis von Serum Autoantikörpern, die gegen die NMDA Rezeptor Untereinheit GluN2A/GluN2B (IgG-DWEYS) und die dsDNA gerichtet sind bei Patienten und Patientinnen mit NPSLE, SLE ohne neuropsychiatrische Manifestationen, NMOSD und bei gesunden Kontrollen (HC) mittels ELISA (A und C). Darüber hinaus wurde das Vorhandensein dieser Antikörper bei NPSLE Patienten und Patientinnen mit und ohne eine Demyelinisierung analysiert (B und D) (53).

Die Daten werden als optische Dichte dargestellt. Die horizontale Linie stellt dabei den Mean ± SEM dar. Details dazu finden sich in (53).

Bei klinisch stabilen Patienten und Patientinnen mit einer SLE Erkrankung, die keine weiteren NPSLE-Manifestationen oder Entzündungen im ZNS aufweisen, kommt es häufiger zum Auftreten von kognitiven Störungen (54), die in mehreren Bereichen auftreten und die Verarbeitungsgeschwindigkeit, exekutive Funktionen und das Gedächtnis beeinträchtigen können. Trotz des häufigen Vorkommens von kognitiven und emotionalen Störungen wurde das mechanistische Verständnis durch eine breite Palette von möglichen Symptomen erschwert, die auf NPSLE zurückzuführen sein könnten. Deshalb wurden die Auswirkungen von Autoantikörpern, die an die DNA binden und auch mit der NMDA Rezeptor Untereinheit GluN2A/GluN2B kreuzreagieren (DNRAb), auf kognitive Störungen in einem geeigneten Tiermodell und auch bei den SLE Patienten und Patientinnen genauer analysiert. In den Vorarbeiten der Gruppe von Betty Diamond ist es gelungen, DNRAbs aus dem Gehirngewebe eines SLE Patienten zu isolieren und auch einen monoklonalen Antikörper daraus herzustellen (55). Außerdem waren erhöhte DNRAbs Titer im CSF mit NPSLE Symptomen assoziiert (5, 56). DNRAbs binden bevorzugt an die geöffnete Konfiguration des NMDA Rezeptors, verstärken dabei die durch den NMDA Rezeptor vermittelten synaptischen Potentiale und können bei höheren

Konzentrationen der Antikörper durch die Bindung an den GluN2A Rezeptor zu Stress für die Mitochondrien führen und so zur Apoptose beitragen (3, 50). DNARabs, die aus dem Serum von SLE Patienten und Patientinnen isoliert und intravenös im Tiermodell verabreicht wurden, führten dort zum Absterben von Neuronen im Hippocampus und zu Beeinträchtigungen des flexiblen Gedächtnisses. Eine Voraussetzung dafür war eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke im Bereich des Hippocampus, was durch Lipopolysaccharid (LPS) erreicht wurde (55). In unserer Studie konnten wir zeigen, dass SLE Patienten und Patientinnen mit hohen Serum Titern von DNARabs unter einer selektiven Beeinträchtigung der räumlichen Wahrnehmung leiden (Abbildung 9) (57).

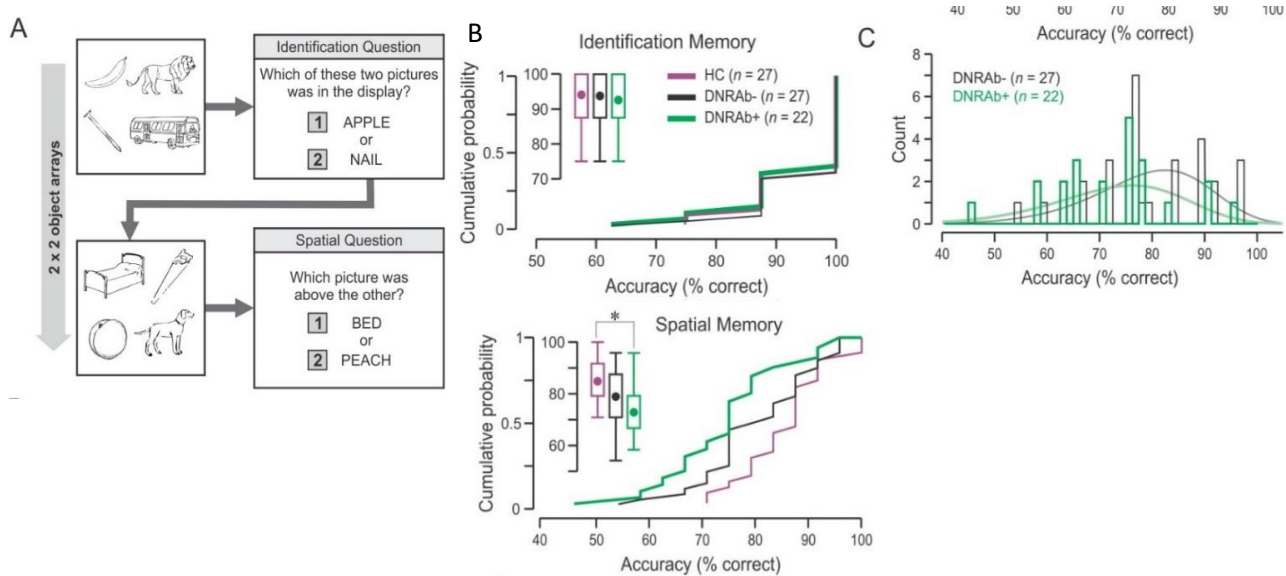


Abbildung 9: aus Chang, [...] und Mader et al., 2015, EBioMedicine.

SLE Patienten und Patientinnen mit DNARabs weisen eine selektive Beeinträchtigung der räumlichen Wahrnehmung auf (A). Den Patienten und Patientinnen wurden dabei für 6 Sekunden einige Objekte gezeigt. Danach wurden sie über ihre Erinnerung an die einzelnen Objekte und auch über deren räumliche Anordnung befragt. (B.) Die Patienten und Patientinnen hatten kein Problem, die einzelnen Objekte aufzulisten (engl. Identification Memory), sie waren aber bei der räumlichen Wahrnehmung der Objekte beeinträchtigt. Diese Beeinträchtigung war bei SLE Patienten und Patientinnen mit DNARabs nachweisbar (DNRAb+). Details dazu finden sich in (57).

A.3.4 ZNS-reaktive Antikörper während der Schwangerschaft

Schwangere Frauen geben schützende IgG Antikörper über die Plazenta an ihre ungeborenen Kinder im Rahmen einer natürlichen Immunität weiter. Beim Auftreten von IgG Autoantikörpern werden allerdings auch diese auf den heranwachsenden Fetus übertragen. Die Übertragung von anti-Ro und anti-La Autoantikörpern kann bei Müttern mit einem SLE zu einem neonatalen Lupus (NLE) beim Neugeborenen führen (58). Diese selten vorkommende Komplikation führt meist zu einem vorübergehenden Hautausschlag ohne eine permanente Schädigung. In äußerst seltenen Fällen kommt es zum Auftreten eines angeborenen Herzblocks, der dann in den meisten Fällen einen Herzschrittmacher erfordert (58).

Der Effekt von mütterlichen und ZNS-reaktiven Autoantikörpern während der Schwangerschaft und ihr Einfluss auf die neurologische Entwicklung des Ungeborenen sind bisher weitgehend unerforscht. In den letzten Jahren gab es jedoch ein gesteigertes Interesse daran, die Auswirkungen von einigen dieser gegenüber dem Gehirn reaktiven Autoantikörpern während der Schwangerschaft genauer zu analysieren (59-61). ZNS-reaktive Antikörper können das embryonale Gehirngewebe penetrieren (62, 63) und zu Entwicklungsstörungen oder psychiatrischen Erkrankungen führen (1, 59, 61, 64). Dies ist möglich, wenn die fetale Blut-Hirn-Schranke für die gehirnreaktiven Antikörper durchlässig ist (62). Während der Zeitpunkt beim Menschen noch nicht genau bestimmt werden konnte, wurde gezeigt, dass bei Mäusen bis zum embryonalen Tag E16.5 eine ausreichende Durchlässigkeit der Blut-Hirn Schranke für IgG Antikörper besteht (62). Die transplazentare Passage von mütterlichen und gegenüber dem Gehirn reaktiven IgG Antikörpern erfolgt mit der Hilfe von neonatalen Fc-Rezeptoren (FcRn), was ab dem frühen Stadium des zweiten Trimesters stattfindet. Dies bildet auch einen kritischen Zeitpunkt für die Übertragung schädlicher Autoantikörper und kann daher auch die fetale Gehirnentwicklung beeinflussen (63). Eine Voraussetzung für eine Bindung der Autoantikörper besteht darin, dass auch das Autoantigen zu dieser Zeit im fetalen Gehirn exprimiert wird (65). Dabei kann auch das Vorliegen von posttranslationalen Modifikationen wie etwa einer Glykosylierung einen Einfluss auf die Autoantikörper Bindung haben (66). Eine Beurteilung der Auswirkungen der maternalen gehirnreaktiven Antikörper kann auch dadurch erschwert werden, dass Symptome erst später im Leben auftreten oder eventuell erst nach einer zusätzlichen Stresseinwirkung sichtbar werden (65). Eine der ersten Studien, die sich mit den Auswirkungen von gehirnreaktiven Antikörpern während der Schwangerschaft beschäftigt hat, war eine Studie aus der Gruppe von Prof. Dr. Betty Diamond, in der eine dauerhafte kognitive Beeinträchtigung durch mütterliche NMDA Rezeptor Antikörper bei Kindern von SLE Patientinnen nachgewiesen werden konnte (61, 67).

Da geirhnreaktive Antikörper auch bei gesunden Müttern nachgewiesen werden konnten, die aufgrund einer intakten Blut-Hirn-Schranke selbst keine neurologischen Symptome hatten, beziehen sich diese Risikoschwangerschaften nicht nur auf Mütter mit vorliegenden neurologischen Erkrankungen, sondern auch auf asymptomatische Mütter (63, 64). In einer der bisher umfassendsten Studie von Betty Diamond konnte nachgewiesen werden, dass Mütter mit einem Kind mit Autismus-Spektrum-Störung, im Vergleich mit Frauen in einem vergleichbaren gebärfähigen Alter, gehäuft geirhnreaktive Antikörpern im Plasma aufweisen (10.5 % versus 2.6 %) (64). Dabei wurde das Plasma von Müttern auf das Vorhandensein von Autoantikörpern untersucht, die an das Gehirngewebe von Mäusen binden. Diese Mütter mit geirhnreaktiven Antikörpern hatten auch häufiger anti-nukleäre Antikörper (ANA) und die Diagnose einer Autoimmunerkrankung, wobei vor allem eine rheumatoide Arthritis und ein systemischer *Lupus erythematoses* vorkamen (64). Bei diesen mütterlichen und geirhnreaktiven Antikörpern sind jedoch die Zielantigene weitgehend unbekannt (64). Erste mögliche Kandidaten bei den durch Antikörper vermittelten Autismus-Spektrum-Störungen wurden von der Gruppe von Prof. Dr. Judy Van de Water beschrieben (68). Vermutlich kann man die Entstehung von Autismus-Spektrum-Störungen auf ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Gene und Umweltfaktoren zurückführen. Obwohl einige Daten bereits seit einigen Jahren darauf hinweisen, dass mütterliche und geirhnreaktive Antikörper relevant für eine Subgruppe von Autismus-Spektrum-Störungen sein könnten (engl. maternal-autoantibody-related (MAR) autism) (64, 69, 70), benötigt man für eine endgültige Bewertung ihrer Pathogenität eine Klonierung von ZNS-reaktiven Antikörpern und eine Verabreichung dieser Antikörper in ein geeignetes Schwangerschaftsmodell. Deshalb haben wir in einer Studie in den USA monoklonale und geirhnreaktive Antikörper aus dem peripheren Blut einer Mutter hergestellt, deren Kind mit einer Autismus-Spektrum-Störung diagnostiziert wurde (71). Das Serum dieser Mutter enthielt geirhnreaktive Antikörper, die durch eine immunohistologische Färbung von Maus-Gehirnschnitten sichtbar gemacht wurden. Die monoklonalen Antikörper wurden aus den peripheren Gedächtnis-B-Zellen generiert, die an natives, humanes und fetales Hirnlysate binden. Dabei wurde das fetale Hirnlysate biotinyliert, um die geirhnreaktiven B -Zellen zu markieren und dann eine Einzelzellsortierung und eine Expression von IgG durchzuführen. Da das Blut der Mutter erst mehrere Jahre nach der Geburt des betroffenen Kindes entnommen wurde, wurden in dieser Studie die Gedächtnis-B-Zellen isoliert, die an das Gehirnlysate binden. Dabei konnten wir nachweisen, dass der generierte monoklonale Antikörper an das Hirngewebe bindet, wobei es darüber hinaus auch gelungen ist, ein neues Autoantigen zu identifizieren, an das der humane monoklonale Antikörper C6 bindet, bei dem es sich um das Contactin-associated protein-like 2 (Caspr2) handelte. Dieses Autoantigen konnte mit einem zellbasierten Testsystem mit Caspr2 transfizierten humanen und

embryonalen Nierenzellen HEK293 nachgewiesen werden (Abbildung 10). Außerdem war die Antikörper-Färbung im Serum der Mutter, die bei C57BL/6 Wildtyp Mäusen deutlich ersichtlich war, bei Caspr2 Knockout Mäusen stark reduziert (Abbildung 10). Dem Caspr2 Protein kommt eine wichtige Funktion bei der normalen Gehirnentwicklung zu, weshalb eine Mutation in dem Gen, das das Caspr2 Protein kodiert (CNTNAP2), mit einem erhöhten Risiko einer Autismus-Spektrum-Störung verbunden ist (72).

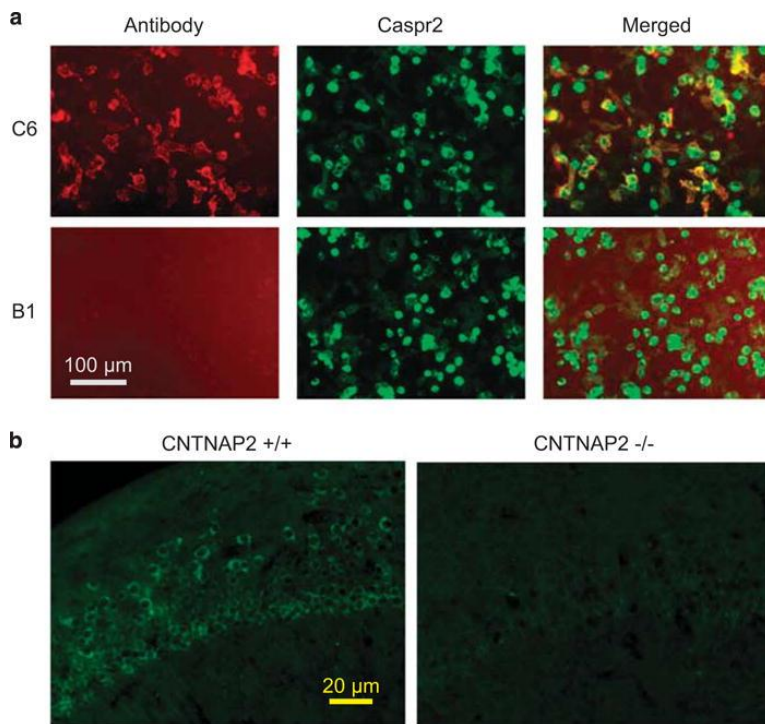


Abbildung 10: aus Brimberg* & Mader* et al. 2016, Molecular Psychiatry.

Nachweis von Caspr2 als Autoantigen bei Autismus-Spektrum-Störungen.

Der gehirnreaktive monoklonale Antikörper C6 bindet an das Caspr2 Protein. Dafür wurden HEK-293T Zellen verwendet, die tGFP-Caspr2 exprimieren (grün), an das der humane Antikörper C6 bindet (rot) (a). Der C6 Antikörper zeigt eine reduzierte Bindung an die CA1 Region im Hippocampus einer CNTNAP2^{-/-} Maus im Vergleich mit einer Maus des Wildtyps (b) (71). Mütter mit gehirnreaktiven Antikörpern und mit Kindern mit einer Autismus-Spektrum-Störung verfügten verstärkt über anti-Caspr2 IgG. Mit dem

verwendeten lebendzellbasierten Assay konnten wir Caspr2-Antikörper bei 37 % (20 von 53) dieser Mütter nachweisen im Vergleich mit 12 % (8 von 63) der Mütter ohne gehirnreaktive Antikörper, aber mit einem Kind mit einer Autismus-Spektrum-Störung. Wir konnten Caspr2 Antikörper auch bei 7.6 % der Mütter nachweisen, die ein „sich typisch entwickelndes Kind“ hatten (4 von 52). Details dazu finden sich in (71).

Um die Pathogenität des Caspr2 monoklonalen Antikörpers (C6) zu analysieren, wurde ein Schwangerschaftsmodell entwickelt, bei dem wir den von uns klonierten IgG Antikörper C6 intravenös in schwangere Mäuse zum Zeitpunkt der Embryonalentwicklung E13.5 injizierten. Als Kontrolle wurde der monoklonale Antikörper B1 injiziert, der als humaner Antikörper nicht an Gehirngewebe bindet. Zu dem gewählten Zeitpunkt (E13.5) ist die Blut-Hirn-Schranke bei Mäusen noch nicht vollständig ausgebildet, sodass die Antikörper in ausreichender Menge in das Gehirngewebe gelangen können (62). Ab dem Zeitpunkt der Embryonalentwicklung E16.5-E17.5 verhindert die dann ausgereifte embryonale Blut-Hirn-Schranke weitgehend ein Eindringen von IgG (62). Bei den Feten der Muttertiere konnten wir bereits zwei Tage nach der Injektion des

monoklonalen Antikörpers C6 einen deutlich geringeren Durchmesser der kortikalen Platte und auch eine Abnahme der proliferierenden Zellen im sich entwickelnden Kortex feststellen. Im Erwachsenenalter zeigten die männlichen Nachkommen, die während der Schwangerschaft dem C6 Antikörper ausgesetzt waren, fokale kortikale Änderungen. Der Abstand zwischen den Neuronen war dabei im entorhinalen Kortex signifikant verändert. Da der entorhinale Kortex in einer zirkulierenden Verbindung mit dem Hippocampus steht, wurden die Pyramidenzellen im Hippocampus durch eine Golgi Färbung näher analysiert, wobei sich eine geringere Anzahl von dendritischen Dornen und Lauben und auch geringere dendritische Verzweigungen zeigten. Dabei handelte es sich um einen Reifungsfehler, da bereits 2 Wochen alte Mäuse, die dem C6 Antikörper *in utero* ausgesetzt waren, eine geringere Anzahl an apikalen dendritischen Verästelungen aufwiesen. Die ausgewachsenen Mäuse hatten auch eine geringere Anzahl an Parvalbumin-exprimierenden Neuronen im Hippocampus, was auch bei den Mäusen mit einer genetischen Deletion von Caspr2 beschrieben wurde. Danach wurden bei den erwachsenen Tieren, die *in utero* dem Caspr2 Antikörper ausgesetzt waren, Verhaltensanalysen durchgeführt. Sie zeigten dabei bei der sozialen Interaktion, den repetitiven Verhaltensweisen und dem flexiblen Lernen eine erhebliche Beeinträchtigung (Abbildung 11).

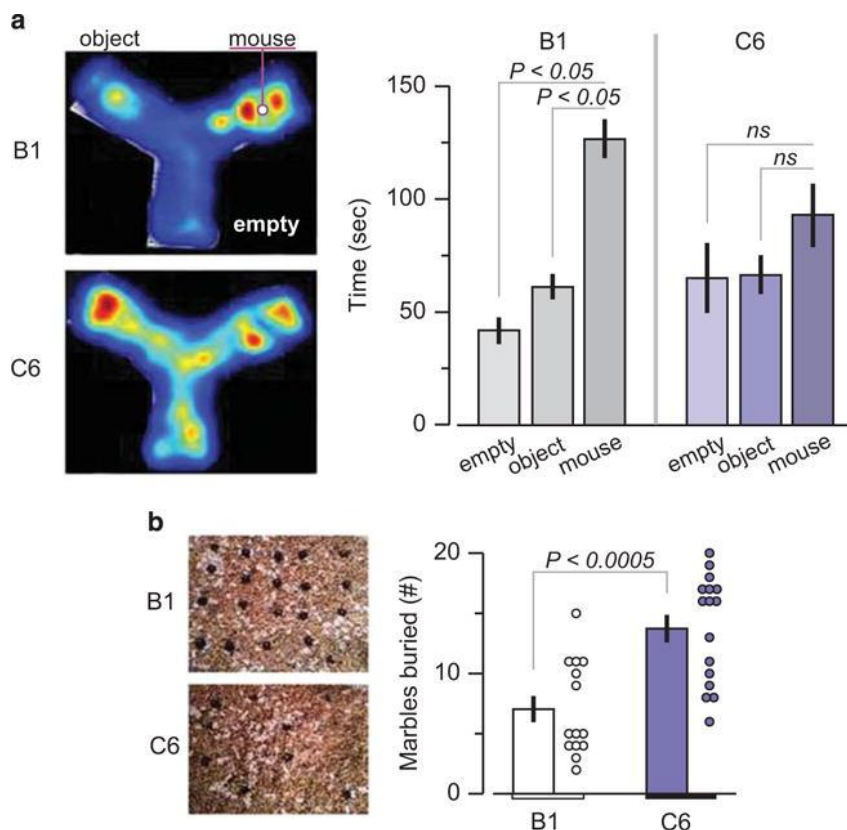


Abbildung 11: aus Brimberg* & Mader* et al. 2016, Molecular Psychiatry: Mütterliche Autoantikörper führen zu Verhaltensstörungen im Nachwuchs. Die Mäuse, die *in utero* dem Antikörper C6 ausgesetzt waren, zeigten Kernsymptome einer Autismus-Spektrum-Störung. (a) Im Social Approach Task zeigten die C6 Mäuse ein abnormales Verhalten im Vergleich mit den B1 Mäusen, die den Kontrollantikörper erhalten hatten. So konnten die C6 Mäuse in der „three arm core chamber“ nicht zwischen einem Objekt, einer anderen Maus oder der leeren Kammer unterscheiden. Die Mäuse,

die den Kontrollantikörper B1 erhalten hatten, zeigten ein normales soziales Verhalten und verbrachten mehr Zeit mit einer unbekannten Maus als mit einem neuen Objekt (b). Beim Vergraben von Marmorkugeln wiesen die C6 Mäuse ein gestörtes stereotaktisches Verhalten auf und vergruben mehr Marmorkugeln als die Kontrollmäuse. Details dazu finden sich in (71).

Sowohl in der Histologie als auch bei den Verhaltensstudien konnten wir in unserer Studie nachweisen, dass der Effekt des Antikörpers geschlechtsabhängig ist und der C6 Antikörper nur bei den männlichen Mäusen zu neurologischen Entwicklungsstörungen führt. Dies ist auch deshalb interessant, weil Autismus-Spektrum-Störungen bei Jungen häufiger diagnostiziert werden als bei Mädchen (73).

Unsere Studie und auch andere aktuelle Veröffentlichungen weisen darauf hin, dass bei einer Subgruppe von ASD (Maternal autoantibody related autism; MAR-ASD) gehirnreaktive Antikörper, wie zum Beispiel Caspr2 Antikörper, zu langfristigen Beeinträchtigungen der Gehirnentwicklung führen können, die mit Verhaltensstörungen verbunden sein können (70). Neben dem Caspr2 Antikörper konnten auch weitere 40 monoklonale Antikörper kloniert werden, die nun im Labor von Betty Diamond weiter analysiert werden.

Antikörper vom IgG Typ werden über den neonatalen Rezeptor FcRn ab dem zweiten Trimester von der Plazenta in den fetalen Blutkreislauf transportiert (74, 75). Dabei gibt es Unterschiede beim Transport der verschiedenen IgG Subtypen, wobei IgG1 die beste Transportkapazität aufweist: $\text{IgG1} > \text{IgG4} > \text{IgG3} > \text{IgG2}$ (75).

Die Transportkapazität der IgG Antikörper ist bei weiblichen und männlichen Feten gleichermaßen gut. In einer weiteren Studie wurde analysiert, von welchen Faktoren dieser transplazentale Transport von IgG beeinflusst werden kann. Dabei wurde der transplazentale Transport eines monoklonalen AQP4-IgG Antikörpers analysiert, der aus den B-Zellen im Liquor Liquor einer NMOSD Patientin im Labor von Jeffrey Bennett generiert wurde. Diese Penetration wurde dann mit vier verschiedenen Fc Mutanten dieses Antikörpers verglichen (Abbildung 12) (76). Alle AQP4-Antikörper mit einem mutierten Fc-Teil, hatten *in vitro* eine Beeinträchtigung der Komplementaktivierung. Einige dieser Fc-Mutanten zeigten in unserer Studie Unterschiede bei ihrer Fähigkeit, die Plazenta zu überqueren. Dies ist vor allem dann wichtig, wenn wir den durch das Komplement vermittelten Effektormechanismus der maternalen Antikörper analysieren wollen und dabei einen Antikörper mit einer Mutation verwenden, der die Komplementaktivierung beeinflusst.

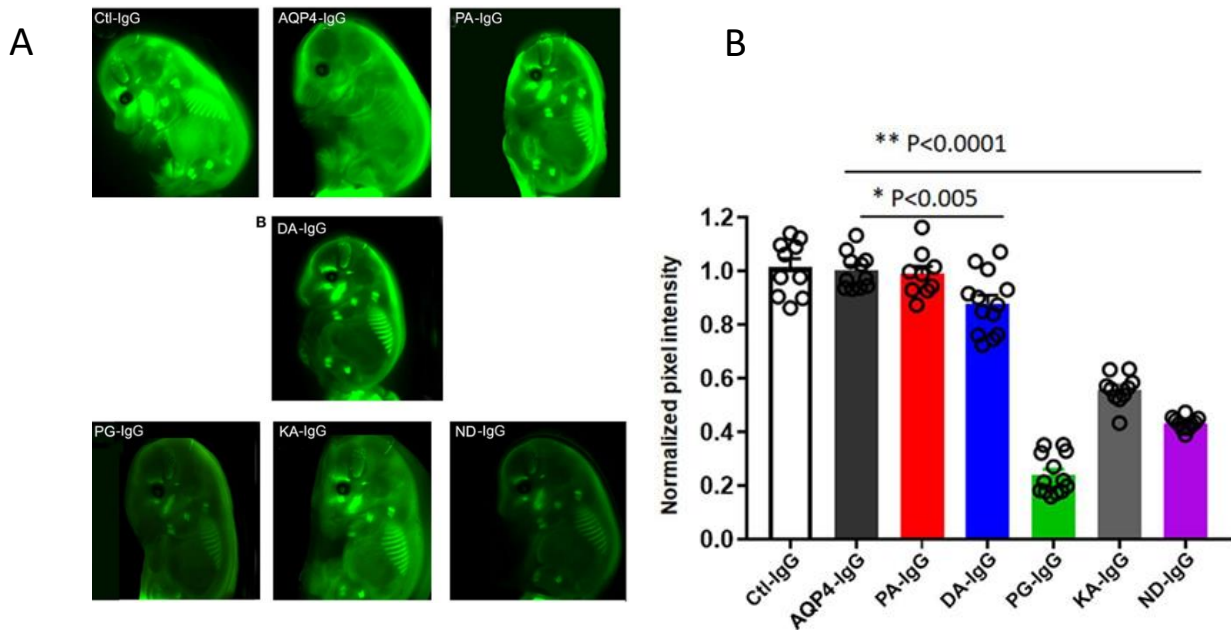


Abbildung 12: aus Mader et al. 2018, Frontiers in Immunology. Effekt einer Fc-Mutation des Antikörpers AQP4-IgG auf den transplazentalen Transport. Die Antikörper wurden mit Infrarot-Fluorophoren markiert und in eine schwangere Maus (E14.5) retro-orbital injiziert. 24 Stunden nach der Verabreichung der Antikörper wurden die Embryonen zusammen mit der Plazenta entnommen, um die Infrarot-Signal Intensität (Pixel Intensität) zu bestimmen (Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Lincoln, NE, USA)). Abbildung A zeigt ein repräsentatives Bild und Abbildung B die Quantifizierung. Die Werte jedes Embryos werden gemittelt und normalisiert auf die durchschnittliche Pixelintensität eines AQP4-IgG-exponierten Embryos dargestellt, der im selben Scan vorhanden ist, um die Variabilität innerhalb der Scans zu berücksichtigen (normalisierte Pixelintensität). Details dazu finden sich in (76).

Die Ergebnisse unserer Studie sind auch therapeutisch relevant, weil man etwa durch eine Fusion mit einem IgG mit einer der von uns beschriebenen beeinträchtigenden Mutation auch therapeutische Mittel entwickeln könnte, die während der Schwangerschaft nicht zum Fetus gelangen und dadurch auch den sich entwickelnden Fetus nicht in Gefahr bringen würden.

A.4 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassung

Autoantikörper und autoreaktive B-Zellen spielen eine zentrale Rolle bei einer stetig zunehmenden Anzahl von neurologischen Erkrankungen. Unsere Arbeiten konnten hier einen entscheidenden Beitrag leisten, die Rolle von Antikörpern bei demyelinisierendem und auch bei neuropsychiatrischem systemischen *Lupus erythematoses* genauer zu definieren. Unsere Ergebnisse liefern wichtige Bausteine für ein besseres Verständnis der Rolle der Antikörper gegen MOG und AQP4 als Biomarker und waren entscheidend daran beteiligt, diese durch Antikörper vermittelten Erkrankungen neu zu definieren. Sie werden aktuell in durch AQP4-IgG vermittelte *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen und mit MOG-IgG assoziierte Erkrankungen eingeteilt. Der Nachweis von AQP4 und MOG-Antikörpern bei NMOSD und MOGAD und auch bei einigen Patienten und Patientinnen mit einem demyelinisierenden NPSLE besitzt eine wichtige diagnostische Relevanz und ist klinisch relevant für eine frühzeitige und gezielte therapeutische Entscheidung. Darüber hinaus konnten wir grundlegende Erkenntnisse zur Immunopathogenese von Antikörpern erlangen, die gegen MOG, AQP4 und den NMDA Rezeptor gerichtet sind. Auch dem Verständnis der durch Antikörper vermittelten Effektormechanismen, wie zum Beispiel der von Antikörpern abhängigen und komplementvermittelten Zytotoxizität, kommt eine weitere wichtige therapeutische Relevanz zu, weil dadurch gezielt Effektormechanismen blockiert werden können.

Neben der Rolle von Antikörpern bei Autoimmunerkrankungen konnten wir auch zeigen, dass ZNS-reaktiven Antikörpern eine wichtige Rolle beim Verlauf der Schwangerschaft zukommen kann, weil es dadurch zu langfristigen kognitiven Beeinträchtigungen der Kinder kommen kann. Unsere Ergebnisse waren entscheidend daran beteiligt, Antikörper bei den Autismus-Spektrum-Störungen eine wichtige Rolle im Rahmen der Schwangerschaft zuzuschreiben, wofür der Begriff maternale und durch Autoantikörper vermittelte ASD eingeführt wurde (*MAR Autismus*) (70, 77). Wegen methodischen Problemen, die sich vor allem auf die Antigenerkennung beziehen, ist MAR Autismus immer noch ein neuartiges, aber in Entwicklung begriffenes Forschungsfeld. Am MAR Autismus sind höchstwahrscheinlich verschiedene ZNS-reaktive maternale Autoantikörper maßgeblich beteiligt, wie zum Beispiel der von uns neu identifizierte Autoantikörper Caspr2 (78). Weitere Forschungsgruppen konnten zusätzliche Autoantikörper nachweisen. MAR Autismus könnte zumindest einen kleinen Prozentsatz der Autismus-Spektrum-Störungen in einer Kombination mit anderen Faktoren wie zum Beispiel einer genetischen Prädisposition erklären.

Ausblick

Durch die Entwicklung neuer Technologien, wie zum Beispiel die Herstellung von monoklonalen Antikörpern durch die Einzelzellsortierung von Gedächtnis B-Zellen- und Plasma-Zellen, kann eine gezielte Analyse der Pathogenität von Autoantikörpern durchgeführt werden. Dabei werden bevorzugt monoklonale Antikörper aus klonal expandierten Plasmazellen aus der Rückenmarksflüssigkeit hergestellt oder aus peripheren B-Zellen die an Antigen-Tetramere binden. Gelegentlich ist es auch möglich, monoklonale Antikörper aus den in das Gehirngewebe migrierenden B-Zellen zu generieren. Eine weitere Beschleunigung dieser Technologie ergab sich durch das 10x Genomics Einzelzellmethoden Verfahren. Nach der Herstellung der monoklonalen Antikörper können sie dann in verschiedenen Tiermodellen oder in geeigneten *in vitro* Modellen auf ihre Pathogenität untersucht werden. Die Entdeckung neuartiger Autoantikörper ist allerdings sehr zeitaufwändig, was vor allem mit der schwierigen Antigensuche zusammenhängt. Die gängigen Verfahren sind dabei ein Screening mit Protein-Arrays oder eine Immunpräzipitation und Massenspektrometrie. Da der Nachweis einiger neuartiger Autoantikörper oftmals abhängig von der Struktur bzw. der Faltung des Autoantigens ist, wie sich dies etwa bei den MOG-Antikörpern bei MOGAD Erkrankungen zeigt, ist der Nachweis mit Protein-Arrays häufig schwierig. Außerdem fehlen in diesen Arrays oftmals wichtige Kandidaten. Unsere Arbeiten machen deutlich, dass der Nachweis von AQP4 und MOG-Antikörpern von der Entwicklung geeigneter zellbasierter Assays abhängig war. Die hier vorgestellten Daten der für die Habilitation relevanten Originalpublikationen beziehen sich auf innovative Methoden und liefern wissenschaftlich und klinisch relevante Ergebnisse hinsichtlich eines erweiterten Verständnisses der Rolle von gegenüber dem ZNS reaktiven Antikörpern bei verschiedenen neuroimmunologischen Erkrankungen und dabei insbesondere bei den *Neuromyelitis-optica*-Spektrum-Erkrankungen, bei MOG-IgG vermittelten Erkrankungen (MOGAD) und beim Lupus mit neuropsychiatrischen Manifestationen, wobei man davon ausgehen kann, dass weitere bisher noch unbekannte Autoantikörper eine wichtige Rolle spielen könnten. Bei den AQP4-IgG positiven NMOSD Erkrankungen kann nach unseren *in vitro* und *in vivo* Daten und auch nach den Ergebnissen anderer Studien der von Antikörpern abhängigen *Komplement-medierten Zytotoxizität* eine zentrale Rolle zugeschrieben werden, die nun mit der Gabe eines Komplementinhibitors behandelt werden kann, wie etwa dem monoklonalen Antikörper Eculizumab gegen das Komplementprotein C5 (46). Im Unterschied dazu konnte zwar in der Arbeitsgruppe von Edgar Meinl eine Pathogenität von MOG-Antikörpern in EAE Tiermodellen nachgewiesen werden (79), aber die zentrale Rolle des Komplements bei den durch MOG-Antikörper vermittelten Autoimmunerkrankungen ist nach wie vor umstritten, was von uns nun in weiteren *in vivo* Studien untersucht wird. Bei NPSLE können DNRAbs in

Abwesenheit von Entzündungszellen bei hohen Antikörper-Konzentrationen zu einem neuronalen Zelltod führen. Bei geringeren Antikörper-Konzentrationen führen die DNRAbs zu einer Veränderung der Funktionsweise von Synapsen. Auch beim NPSLE ist davon auszugehen, dass kognitive Symptome nicht ausschließlich auf DNRAbs zurückzuführen sind, sondern dass auch Zytokine und andere gehirnreaktive Autoantikörper eine entscheidende Rolle spielen könnten (3).

Die Rolle des humoralen Immunsystems soll nun vor allem bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen analysiert werden, bei denen bisher noch keine Autoantigene entdeckt wurden, wobei allerdings die Gehirnschnitte eine starke Autoantikörperfärbung aufweisen. Die Strategie der Generierung von monoklonalen Antikörpern aus Gedächtnis B-Zellen, die an Gehirnllysate binden und im Rahmen meiner Forschung etabliert wurden (71), soll nun auch bei anderen durch Antikörper vermittelten Erkrankungen eingesetzt werden. Dabei soll auch eine effizientere Methodik der Antigensuche ausgearbeitet werden.

Da wir in unseren Arbeiten zeigen konnten, dass maternale Autoantikörper die Gehirnentwicklung beeinflussen können, wäre es wichtig, dies für verschiedene Autoantikörper zu analysieren, wie zum Beispiel für AQP4-IgG (Mader et al., manuscript under revision). ZNS-reaktive Antikörper können aber auch bei asymptomatischen schwangeren Frauen auftreten, was eine bislang weitgehend unbekannte Ursache für die Entstehung kindlicher Gehirnentwicklungsstörungen sein könnte, wie zum Beispiel bei einer Subgruppe von Autismus-Spektrum-Störungen. Mit unserer neuen Technologie können wir auch weitere monoklonale und gehirnreaktive Autoantikörper generieren, die etwa bei „maternal antibody related (MAR) autism“ eine wichtige Rolle spielen könnten (70, 78).

Die Entdeckung neuer und unbekannter Autoantikörper bildet eine wichtige Voraussetzung für eine verbesserte therapeutische Intervention, die es erlauben würde, schädliche Antikörper bei Autoimmunerkrankungen gezielter zu blockieren und den Transfer von schädlichen maternalen Autoantikörpern zu verhindern bzw. zu reduzieren. Eine Möglichkeit dabei wäre zum Beispiel die Blockierung von schädlichen Antikörpern durch die Entwicklung von Peptid-Mimotopen bei den durch Antikörper vermittelten Erkrankungen. Darüber hinaus könnten auch im Schwangerschaftsmodell präventive Strategien entwickelt werden, um das sich entwickelnde Gehirn vor Schädigungen durch Autoantikörper schützen zu können (Diamond B., **Mader S.**, Brimberg L., Gregerson P.: Inhibition of autism spectrum disorder using decoy antigens to maternal brain-reactive antibodies, U.S. Patent).

Für die Fortführung und Ausweitung der Studien zur Rolle der Autoantikörper bei neuroimmunologischen Erkrankungen und während der Schwangerschaft konnten von mir ein Förderprogramm von der Else Kröner-Fresenius-Stiftung, der Schering und Fritz-Thyssen-Stiftung, eine Unterstützung durch die LMU Nachwuchsförderungsfonds und Gelder von der Novartis Stiftung und dem MOMENTE Programm der LMU eingeworben werden.

A.5 Literatur

1. B. Diamond, G. Honig, S. Mader, L. Brimberg, B. T. Volpe, Brain-reactive antibodies and disease. *Annu Rev Immunol* **31**, 345-385 (2013).
2. L. Brimberg *et al.*, Antibodies as Mediators of Brain Pathology. *Trends Immunol* **36**, 709-724 (2015).
3. S. Mader, L. Brimberg, B. Diamond, The Role of Brain-Reactive Autoantibodies in Brain Pathology and Cognitive Impairment. *Front Immunol* **8**, 1101 (2017).
4. H. Jeltsch-David, S. Muller, Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: pathogenesis and biomarkers. *Nat Rev Neurol* **10**, 579-596 (2014).
5. L. A. DeGiorgio *et al.*, A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat Med* **7**, 1189-1193 (2001).
6. S. Matus *et al.*, Antiribosomal-P autoantibodies from psychiatric lupus target a novel neuronal surface protein causing calcium influx and apoptosis. *J Exp Med* **204**, 3221-3234 (2007).
7. F. Segovia-Miranda *et al.*, Pathogenicity of lupus anti-ribosomal P antibodies: role of cross-reacting neuronal surface P antigen in glutamatergic transmission and plasticity in a mouse model. *Arthritis Rheumatol* **67**, 1598-1610 (2015).
8. V. A. Lennon, T. J. Kryzer, S. J. Pittock, A. S. Verkman, S. R. Hinson, IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* **202**, 473-477 (2005).
9. D. M. Wingerchuk *et al.*, International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology* **85**, 177-189 (2015).
10. C. A. Kirvan, S. E. Swedo, J. S. Heuser, M. W. Cunningham, Mimicry and autoantibody-mediated neuronal cell signaling in Sydenham chorea. *Nat Med* **9**, 914-920 (2003).
11. F. Graus *et al.*, Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **75**, 1135-1140 (2004).
12. H. Pruss, Autoantibodies in neurological disease. *Nat Rev Immunol*, (2021).
13. J. Kreye *et al.*, Human cerebrospinal fluid monoclonal N-methyl-D-aspartate receptor autoantibodies are sufficient for encephalitis pathogenesis. *Brain* **139**, 2641-2652 (2016).
14. A. Zou, S. Ramanathan, R. C. Dale, F. Brilot, Single-cell approaches to investigate B cells and antibodies in autoimmune neurological disorders. *Cell Mol Immunol* **18**, 294-306 (2021).
15. S. M. Brandle *et al.*, Distinct oligoclonal band antibodies in multiple sclerosis recognize ubiquitous self-proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**, 7864-7869 (2016).
16. P. Tsiortou, H. Alexopoulos, M. C. Dalakas, GAD antibody-spectrum disorders: progress in clinical phenotypes, immunopathogenesis and therapeutic interventions. *Ther Adv Neurol Disord* **14**, 17562864211003486 (2021).
17. H. Pan *et al.*, Multiple inducers and novel roles of autoantibodies against the obligatory NMDAR subunit NR1: a translational study from chronic life stress to brain injury. *Mol Psychiatry* **26**, 2471-2482 (2021).
18. P. D. Burbelo, M. J. Iadarola, J. M. Keller, B. M. Warner, Autoantibodies Targeting Intracellular and Extracellular Proteins in Autoimmunity. *Front Immunol* **12**, 548469 (2021).
19. J. L. Bennett *et al.*, Intrathecal pathogenic anti-aquaporin-4 antibodies in early neuromyelitis optica. *Ann Neurol* **66**, 617-629 (2009).
20. B. Zeka *et al.*, Highly encephalitogenic aquaporin 4-specific T cells and NMO-IgG jointly orchestrate lesion location and tissue damage in the CNS. *Acta Neuropathol* **130**, 783-798 (2015).
21. D. Cohen *et al.*, Brain histopathology in patients with systemic lupus erythematosus: identification of lesions associated with clinical neuropsychiatric lupus syndromes and the role of complement. *Rheumatology (Oxford)* **56**, 77-86 (2017).

22. S. Hillebrand *et al.*, Circulating AQP4-specific auto-antibodies alone can induce neuromyelitis optica spectrum disorder in the rat. *Acta Neuropathol* **137**, 467-485 (2019).
23. J. Nestor *et al.*, Lupus antibodies induce behavioral changes mediated by microglia and blocked by ACE inhibitors. *J Exp Med* **215**, 2554-2566 (2018).
24. A. Cobo-Calvo *et al.*, Clinical Features and Risk of Relapse in Children and Adults with Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease. *Ann Neurol* **89**, 30-41 (2021).
25. D. M. Wingerchuk, V. A. Lennon, S. J. Pittock, C. F. Lucchinetti, B. G. Weinshenker, Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* **66**, 1485-1489 (2006).
26. S. Jarius *et al.*, Contrasting disease patterns in seropositive and seronegative neuromyelitis optica: A multicentre study of 175 patients. *J Neuroinflammation* **9**, 14 (2012).
27. M. C. Papadopoulos, J. L. Bennett, A. S. Verkman, Treatment of neuromyelitis optica: state-of-the-art and emerging therapies. *Nat Rev Neurol* **10**, 493-506 (2014).
28. P. Waters, A. Vincent, Detection of anti-aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica: current status of the assays. *Int MS J* **15**, 99-105 (2008).
29. P. Waters *et al.*, Multicentre comparison of a diagnostic assay: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **87**, 1005-1015 (2016).
30. S. Mader, L. Brimberg, Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. *Cells* **8**, (2019).
31. M. Lu *et al.*, The human AQP4 gene: definition of the locus encoding two water channel polypeptides in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 10908-10912 (1996).
32. S. Mader *et al.*, Patterns of antibody binding to aquaporin-4 isoforms in neuromyelitis optica. *PLoS One* **5**, e10455 (2010).
33. I. Dujmovic *et al.*, Temporal dynamics of cerebrospinal fluid anti-aquaporin-4 antibodies in patients with neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Neuroimmunol* **234**, 124-130 (2011).
34. V. Gredler *et al.*, Clinical and immunological follow-up of B-cell depleting therapy in CNS demyelinating diseases. *J Neurol Sci* **328**, 77-82 (2013).
35. F. Aboul-Enein *et al.*, Neuromyelitis optica in Austria in 2011: to bridge the gap between neuroepidemiological research and practice in a study population of 8.4 million people. *PLoS One* **8**, e79649 (2013).
36. S. Mader *et al.*, Complement activating antibodies to myelin oligodendrocyte glycoprotein in neuromyelitis optica and related disorders. *J Neuroinflammation* **8**, 184 (2011).
37. M. Bradl *et al.*, Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* **66**, 630-643 (2009).
38. K. C. O'Connor *et al.*, Self-antigen tetramers discriminate between myelin autoantibodies to native or denatured protein. *Nat Med* **13**, 211-217 (2007).
39. T. Berger *et al.*, Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med* **349**, 139-145 (2003).
40. V. Lampasona *et al.*, Similar low frequency of anti-MOG IgG and IgM in MS patients and healthy subjects. *Neurology* **62**, 2092-2094 (2004).
41. E. T. Lim *et al.*, Anti-myelin antibodies do not allow earlier diagnosis of multiple sclerosis. *Mult Scler* **11**, 492-494 (2005).
42. M. Reindl *et al.*, Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. *Brain* **122** (Pt 11), 2047-2056 (1999).
43. G. Krishnamoorthy, H. Lassmann, H. Wekerle, A. Holz, Spontaneous opticospinal encephalomyelitis in a double-transgenic mouse model of autoimmune T cell/B cell cooperation. *J Clin Invest* **116**, 2385-2392 (2006).
44. F. Di Pauli *et al.*, Temporal dynamics of anti-MOG antibodies in CNS demyelinating diseases. *Clin Immunol* **138**, 247-254 (2011).

45. K. Rostasy *et al.*, Anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in pediatric patients with optic neuritis. *Arch Neurol* **69**, 752-756 (2012).
46. S. Mader, T. Kumpfel, E. Meinl, Novel insights into pathophysiology and therapeutic possibilities reveal further differences between AQP4-IgG- and MOG-IgG-associated diseases. *Curr Opin Neurol* **33**, 362-371 (2020).
47. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum* **42**, 599-608 (1999).
48. J. G. Hanly, Diagnosis and management of neuropsychiatric SLE. *Nat Rev Rheumatol* **10**, 338-347 (2014).
49. Y. Sherer, A. Gorstein, M. J. Fritzler, Y. Shoenfeld, Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients. *Semin Arthritis Rheum* **34**, 501-537 (2004).
50. T. W. Faust *et al.*, Neurotoxic lupus autoantibodies alter brain function through two distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 18569-18574 (2010).
51. S. J. Pittock *et al.*, Neuromyelitis optica and non organ-specific autoimmunity. *Arch Neurol* **65**, 78-83 (2008).
52. K. Estrada *et al.*, A whole-genome sequence study identifies genetic risk factors for neuromyelitis optica. *Nat Commun* **9**, 1929 (2018).
53. S. Mader *et al.*, Understanding the Antibody Repertoire in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder: Do They Share Common Targets? *Arthritis Rheumatol* **70**, 277-286 (2018).
54. P. Toledano, N. Sarbu, G. Espinosa, N. Bargallo, R. Cervera, Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: magnetic resonance imaging findings and correlation with clinical and immunological features. *Autoimmun Rev* **12**, 1166-1170 (2013).
55. C. Kowal *et al.*, Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 19854-19859 (2006).
56. Y. Arinuma, T. Yanagida, S. Hirohata, Association of cerebrospinal fluid anti-NR2 glutamate receptor antibodies with diffuse neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **58**, 1130-1135 (2008).
57. E. H. Chang *et al.*, Selective Impairment of Spatial Cognition Caused by Autoantibodies to the N-Methyl-D-Aspartate Receptor. *EBioMedicine* **2**, 755-764 (2015).
58. A. Brucato, R. Cimaz, R. Caporali, V. Ramoni, J. Buyon, Pregnancy outcomes in patients with autoimmune diseases and anti-Ro/SSA antibodies. *Clin Rev Allergy Immunol* **40**, 27-41 (2011).
59. B. Jurek *et al.*, Human gestational N-methyl-d-aspartate receptor autoantibodies impair neonatal murine brain function. *Ann Neurol* **86**, 656-670 (2019).
60. S. Saadoun *et al.*, Neuromyelitis optica IgG causes placental inflammation and fetal death. *J Immunol* **191**, 2999-3005 (2013).
61. J. Y. Lee *et al.*, Neurotoxic autoantibodies mediate congenital cortical impairment of offspring in maternal lupus. *Nat Med* **15**, 91-96 (2009).
62. V. Braniste *et al.*, The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med* **6**, 263ra158 (2014).
63. A. K. Probstel, S. S. Zamvil, Do maternal anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies promote development of neuropsychiatric disease in children? *Ann Neurol* **86**, 653-655 (2019).
64. L. Brimberg, A. Sadiq, P. K. Gregersen, B. Diamond, Brain-reactive IgG correlates with autoimmunity in mothers of a child with an autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry* **18**, 1171-1177 (2013).
65. A. Gata-Garcia, B. Diamond, Maternal Antibody and ASD: Clinical Data and Animal Models. *Front Immunol* **10**, 1129 (2019).

66. I. Marti Fernandez *et al.*, The Glycosylation Site of Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Affects Autoantibody Recognition in a Large Proportion of Patients. *Front Immunol* **10**, 1189 (2019).
67. L. Wang *et al.*, Female mouse fetal loss mediated by maternal autoantibody. *J Exp Med* **209**, 1083-1089 (2012).
68. D. Braunschweig *et al.*, Autism: maternally derived antibodies specific for fetal brain proteins. *Neurotoxicology* **29**, 226-231 (2008).
69. D. Braunschweig *et al.*, Behavioral correlates of maternal antibody status among children with autism. *J Autism Dev Disord* **42**, 1435-1445 (2012).
70. K. Marks, A. Vincent, E. Coutinho, Maternal-Autoantibody-Related (MAR) Autism: Identifying Neuronal Antigens and Approaching Prospects for Intervention. *J Clin Med* **9**, (2020).
71. L. Brimberg *et al.*, Caspr2-reactive antibody cloned from a mother of an ASD child mediates an ASD-like phenotype in mice. *Mol Psychiatry* **21**, 1663-1671 (2016).
72. K. A. Strauss *et al.*, Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. *N Engl J Med* **354**, 1370-1377 (2006).
73. J. Baio *et al.*, Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ* **67**, 1-23 (2018).
74. B. Z. Garty, A. Ludomirsky, Y. L. Danon, J. B. Peter, S. D. Douglas, Placental transfer of immunoglobulin G subclasses. *Clin Diagn Lab Immunol* **1**, 667-669 (1994).
75. A. Malek, R. Sager, P. Kuhn, K. H. Nicolaides, H. Schneider, Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* **36**, 248-255 (1996).
76. S. Mader, L. Brimberg, J. N. Soltys, J. L. Bennett, B. Diamond, Mutations of Recombinant Aquaporin-4 Antibody in the Fc Domain Can Impair Complement-Dependent Cellular Cytotoxicity and Transplacental Transport. *Front Immunol* **9**, 1599 (2018).
77. A. Ramirez-Celis *et al.*, Risk assessment analysis for maternal autoantibody-related autism (MAR-ASD): a subtype of autism. *Mol Psychiatry* **26**, 1551-1560 (2021).
78. H. Malkki, Neurodevelopmental disorders: Maternal antibodies induce autism-like phenotype in mice. *Nat Rev Neurol* **12**, 678-679 (2016).
79. M. Spadaro *et al.*, Pathogenicity of human antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Ann Neurol* **84**, 315-328 (2018).

B. Lebenslauf

Auf den Lebenslauf in der PDF-Version der Hochschulschrift wurde verzichtet.

Veröffentlichte Manuskripte:

1: Macrini C, Gerhards R, Winklmeier S, Bergmann L, **Mader S**, Spadaro M, Vural A, Smolle M, Hohlfeld R, Kümpfel T, Lichtenthaler S, Franquelim H, Jenne D, Meinl E, Features of MOG required for recognition by patients with MOG-antibody-associated disorders, **Brain**, 2021 Sep 4;144(8):2375-2389. doi: [10.1093/brain/awab105](https://doi.org/10.1093/brain/awab105).

2: Gerhards R; Pfeffer L; Lorenz J; Starost L; Nowack L; Thaler F; Schlüter M; Rübsamen H; Macrini C; Winklmeier S; **Mader S**; Bronge M; Grönlund H; Feederle R; Hsia H; Lichtenthaler S; Merl-Pham J; Hauck S; Kuhlmann T; Bauer I; Beltran E; Gerdes L; Mezydło A; Bar-Or A; Banwell B; Khademi M; Olsson T; Hohlfeld R; Lassmann H; Kümpfel T; Kawakami N; Meinl E, Oligodendrocyte myelin glycoprotein as a novel target for pathogenic autoimmunity in the CNS. **Acta Neuropathol Commun**. 2020 Nov 30;8(1):207. doi: [10.1186/s40478-020-01086-2](https://doi.org/10.1186/s40478-020-01086-2).

3: Khatri S, Psaraffis N, Funaro A, Arinuma Y, Fujieda Y, **Mader S**, Jørgensen C, Astakhova K. Serological Comparison of Systemic Lupus Erythematosus with Neuropsychiatric Lupus using Synthetic Nucleic Acid Antigens. **J Transl Autoimmun**. 2020 Oct 28;3:100068. doi: [10.1016/j.jtauto.2020.100068](https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2020.100068).

4: Beltrán E*, Paunovic M*, Cesur E, Gebert D, Jeitler M, Höftberger M, Malotka J, **Mader S**, Kawakami N, Meinl E, Bradl M*, Dornmair K*, Lassmann H*. Archeological neuroimmunology: Resurrection of a pathogenic immune response from a historical case sheds light on human autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. **Acta Neuropathol**. 2021 Jan;141(1):67-83. doi: [10.1007/s00401-020-02239-2](https://doi.org/10.1007/s00401-020-02239-2).

5: **Mader S***, Kuempfel T, Meinl E. Novel insights into pathophysiology and therapeutic possibilities reveal further differences between AQP4-IgG and MOG-IgG associated diseases. Current opinion in Neurology. Review, **Curr Opin Neurol**. 2020 Jun;33(3):362-371. doi: [10.1097/WCO.0000000000000813](https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000813).

* korrespondierender Autor

6: Winklmeier S, Schlüter M, Spadaro M, Thaler FS, Vural A, Gerhards R, Macrini C, **Mader S**, Kurne A, Inan B, Karabudak R, Özbay FG, Esendagli G, Hohlfeld R, Kümpfel T, Meinl E. Circulating myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-specific B cells stratify patients with MOG-antibodies. **Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm**. 2019 Oct 14;6(6):625. doi: [10.1212/NXI.0000000000000625](https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000625).

7: Drulovic J, Martinovic V, Basuroski ID, Mesaros S, **Mader S**, Weinshenker B, Pekmezovic T. Long-term outcome and prognosis in patients with neuromyelitis optica spectrum disorder from Serbia. **Mult Scler Relat Disord**. 2019 Nov;36:101413. doi: [10.1016/j.msard.2019.101413](https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.101413).

8: **Mader S***, Brimberg L*. Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. **Cells**. 2019 Jan 27;8(2). pii: E90. doi: [10.3390/cells8020090](https://doi.org/10.3390/cells8020090). Review.

* geteilte Autorenschaft

* korrespondierender Autor

9: Fujieda Y, **Mader S**, Jeganathan V, Arinuma Y, Shimizu Y, Kato M, Oku K, Minami A, Shimizu C, Yasuda S, Atsumi T. Clinical significance of anti-DNA/N-methyl-D-aspartate receptor 2 antibodies in de novo and post-steroid cases with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. **Int J Rheum Dis**. 2019 Mar;22(3):443-448. doi: [10.1111/1756-185X.13392](https://doi.org/10.1111/1756-185X.13392). Epub 2018 Oct 24.

10: **Mader S***, Brimberg L*, Soltys JN, Bennett JL, Diamond B. Mutations of Recombinant Aquaporin-4 Antibody in the Fc Domain Can Impair Complement-Dependent Cellular Cytotoxicity and Transplacental Transport. **Front Immunol**. 2018 Jul 13;9:1599. doi: [10.3389/fimmu.2018.01599](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01599).

*** geteilte Erstautorenschaft**

11: **Mader S***, Jeganathan V*, Arinuma Y, Fujieda Y, Dujmovic I, Drulovic J, Shimizu Y, Sakuma Y, Stern JNH, Aranow C, Mackay M, Yasuda S, Atsumi T, Hirohata S, Diamond B. Understanding the Antibody Repertoire in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder: Do They Share Common Targets? **Arthritis Rheumatol**. 2018 Feb;70(2):277-286. doi: [10.1002/art.40356](https://doi.org/10.1002/art.40356).

*** geteilte Erstautorenschaft**

featured as a research highlight in Arthritis and Rheumatology, February 2018

12: **Mader S**, Brimberg L, Diamond B. The Role of Brain-Reactive Autoantibodies in Brain Pathology and Cognitive Impairment. **Front Immunol**. 2017 Sep 11;8:1101. Review. doi: [10.3389/fimmu.2017.01101](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01101).

13: Hennes EM, Baumann M, Schanda K, Anlar B, Bajer-Kornek B, Blaschek A, Brantner-Inthaler S, Diepold K, Eisenkölbl A, Gotwald T, Kuchukhidze G, Gruber-Sedlmayr U, Häusler M, Höftberger R, Karenfort M, Klein A, Koch J, Kraus V, Lechner C, Leiz S, Leyboldt F, **Mader S**, Marquard K, Poggenburg I, Pohl D, Pritsch M, Raucherzauner M, Schimmel M, Thiels C, Tibussek D, Vieker S, Zeches C, Berger T, Reindl M, Rostásy K; BIOMARKER Study Group. Prognostic relevance of MOG antibodies in children with an acquired demyelinating syndrome. **Neurology**. 2017 Aug 29;89(9):900-908. doi: [10.1212/WNL.0000000000004312](https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004312).

14: Brimberg L*, **Mader S***, Jeganathan V, Berlin R, Gregersen P, Huerta P, Volpe B, Diamond B, Caspr2-reactive antibody cloned from a mother of an ASD child mediates ASD-like phenotype in mice, **Mol Psychiatry**. 2016 Dec;21(12):1663-1671. doi: [10.1038/mp.2016.165](https://doi.org/10.1038/mp.2016.165).

*** geteilte Erstautorenschaft**

featured as research highlight in Nature Reviews Neurology: Neurodevelopmental disorders: Maternal antibodies induce autism-like phenotype in mice (Hemi Malkki)

selected for the International Society of Autism Research (INSAR's) Young Investigator Award for the best Autism-related empirical research studies conducted by up-and-coming scientists (award received by Brimberg)

selected for press release, Society for Neuroscience, Chicago, IL. 2015

15: Honig G, **Mader S**, Chen H, Porat A, Ochani M, Wang P, Volpe BT, Diamond B. Blood-Brain Barrier Deterioration and Hippocampal Gene Expression in Polymicrobial Sepsis: An Evaluation of Endothelial MyD88 and the Vagus Nerve. **PLoS One**. 2016 Jan 20;11(1):e0144215. eCollection 2016. doi: [10.1371/journal.pone.0144215](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144215).

- 16: Zeka B, Hastermann M, Hochmeister S, Kögl N, Kaufmann N, Schanda K, **Mader S**, Misu T, Rommer P, Fujihara K, Illes Z, Leutmezer F, Sato DK, Nakashima I, Reindl M, Lassmann H, Bradl M. Highly encephalitogenic aquaporin 4-specific T cells and NMO-IgG jointly orchestrate lesion location and tissue damage in the CNS. **Acta Neuropathol**. 2015 Dec;130(6):783-98. doi:[10.1007/s00401-015-1501-5](https://doi.org/10.1007/s00401-015-1501-5).
- 17: Brimberg L, **Mader S**, Fujieda Y, Kowal C, et al, Antibodies as mediators of brain pathology. **Trends Immunol**. 2015 Nov;36(11):709-724. Review. doi: [10.1016/j.it.2015.09.008](https://doi.org/10.1016/j.it.2015.09.008).
- 18: Sankovski R*, **Mader S***, Valdes S*. Systemic inflammation and the brain: novel roles of genetic, molecular, and environmental cues as drivers of neurodegeneration. **Front Cell Neurosci**. 2015;9:28. doi: [10.3389/fncel.2015.00028](https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00028).
 * geteilte Erstautorenschaft
 * korrespondierender Autor
- 19: Chang E, Volpe B, Mackay M, Aranow C, Watson P, Kowal C, Storbeck J, Mattis P, Berlin R, Chen H, **Mader S**, Tomas S, Huerta T, Huerta P, Diamond B. Selective impairment of spatial cognition caused by autoantibodies to the N-methyl-D-aspartate receptor. **EbioMedicine**, 2015 May 30;2(7):755-64. doi: [10.1016/j.ebiom.2015.05.027](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.05.027).
20. Baumann M, Sahin K, Lechner C, Hennes EM, Schanda K, **Mader S** et al., Clinical and neuroradiological differences of pediatric acute disseminating encephalomyelitis with and without antibodies to the myelin oligodendrocyte glycoprotein. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. 2015 Mar;86(3):265-72. doi: [10.1136/jnnp-2014-308346](https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-308346).
- 21: Diamond B, Honig, **Mader S**, Brimberg L, Volpe B. Brain-Reactive Antibodies and Disease. **Annu Rev Immunol** 2013 31:345-85. Review. doi: [10.1146/annurev-immunol-020711-075041](https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075041).
- 22: Pohl M, Kawakami N, Kitic M, Bauer J, Martins R, Fischer MT, Machado-Santos J, **Mader S** et al., T cell-activation in neuromyelitis optica lesions plays a role in their formation. **Acta Neuropathol Commun**. 2013;1(1):85. doi: [10.1186/2051-5960-1-85](https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-85).
- 23: Gredler V*, **Mader S***, Schanda K, Hegen H, Di Pauli F, Kuenz B, Deisenhammer F, Berger T, Reindl M, Lutterotti A; Clinical and immunological follow-up of B-cell depleting therapy in CNS demyelinating diseases. **J Neurol Science**. 2013 May;328(1-2):77-82. doi: [10.1016/j.jns.2013.02.024](https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.02.024).
 * geteilte Erstautorenschaft
- 24: Rostásy K, **Mader S**, Hennes E, Schanda K et al, Persisting myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in aquaporin-4 antibody negative pediatric neuromyelitis optica. **Mult Scler**. 2013; 19(8):1052-9. doi: [10.1177/1352458512470310](https://doi.org/10.1177/1352458512470310).
- 25: Kitic M, Hochmeister S, Wimmer I, Bauer J, Misu T, **Mader S**, et al., Intrastriatal injection of interleukin-1 beta triggers the formation of neuromyelitis optica-like lesions in NMO-IgG seropositive rats. **Acta Neuropathol Commun**. 2013;1(1):5. doi: [10.1186/2051-5960-1-5](https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-5).
- 26: Aboul-Enein F, Seifert-Held T, **Mader S**, et.al., Neuromyelitis Optica in Austria in 2011: To Bridge the Gap between Neuroepidemiological Research and Practice in a Study Population of 8.4 Million People. **PLoS One**. 2013 Nov 5;8(11):e79649. doi: [10.1371/journal.pone.0079649](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079649).

27: Rostasy K, **Mader S**, Di Pauli F, Huppke P, Gärtner J, Marquart F, Karenfurt M, Tibussek D, Blaschek A, Kornek B, Leitz S, Berger T, Reindl M. Anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in pediatric patients with optic neuritis. **Archives of Neurology**, 2012;69(6):752-756. doi: [10.1001/archneurol.2011.2956](https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.2956).

28: **Mader S**, Gredler V, Schanda K, Rostasy K, Dujmovic I, Pfaller K, Lutterotti A, Jarius S, Di Pauli F, Kuenz B, Ehling R, Hegen H, Deisenhammer F, Aboul-Enein F, Storch M K, Koson P, Drulovic J, Kristoferitsch W, Berger T, Reindl M; Complement activating antibodies to myelin oligodendrocyte glycoprotein in neuromyelitis optica and related disorders. **J Neuroinflammation**. 2011;8:184. doi: [10.1186/1742-2094-8-184](https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-184).

29: Jarius S, Jacobi C, de Seze J, Zephir H, Paul F, Franciotta D, Rommer P, **Mader S**, et al., Frequency and syndrome specificity of antibodies to aquaporin-4 in neurological patients with rheumatic diseases. **Multiple Sclerosis Journal**. 2011 Sep | 17(9):1067-73. doi: [10.1177/1352458511403958](https://doi.org/10.1177/1352458511403958).

30: Pohl M, Fischer M, **Mader S**, Schanda K, Kitic M, Sharma R, Misu T, Fujihara K, Reindl M, Lassmann H & Bradl M. Pathogenic T cell responses against aquaporin 4. **Acta Neuropathologica**, 2011 Jul | 122(1):21-34. doi: [10.1007/s00401-011-0824-0](https://doi.org/10.1007/s00401-011-0824-0).

31: Dujmovic I*, **Mader S** *, Schanda K, Deisenhammer F, Stojasavljevic N, Kostic V, Berger T, Drulovic J, Reindl M. Temporal dynamics of cerebrospinal fluid anti-aquaporin-4 antibodies in patients with neuromyelitis optica spectrum disorders. **J Neuroimmunology**. 2011; 234(1-2):124-30. doi: [10.1016/j.jneuroim.2011.01.007](https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.01.007).

* **geteilte Erstautorenschaft**

32: **Mader S**, Deisenhammer F, Reindl M. Anti-AQP4 IgG antibodies as biomarkers for early diagnosis of Neuromyelitis optica spectrum disorders. **Journal of Laboratory Medicine**, 2011. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jlm.2010.055/html>

33: Di Pauli F*, **Mader S***, Rostasy K, Schanda K, Bajer-Kornek B, Ehling R, Deisenhammer F, Reindl M, Berger T. Temporal dynamics of anti-MOG antibodies in CNS demyelinating diseases. **Clin Immunol**. 2011;138(3):247-54. doi: [10.1016/j.clim.2010.11.013](https://doi.org/10.1016/j.clim.2010.11.013).

* **geteilte Erstautorenschaft**

34: **Mader S**, Lutterotti A, DiPauli F, Kuenz B, Schanda K, AboulEnein F, Khalil M, Storch MK, Jarius S, Kristoferitsch W, Berger T, Reindl M. Patterns of antibody binding to aquaporin-4 isoforms in neuromyelitis optica. **PLoS One**. 2010;5(5):e10455. doi: [10.1371/journal.pone.0010455](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010455).

35: Bradl M, Misu T, Takahashi T, Watanabe M, **Mader S**, Reindl M, Adzemovic M, Bauer J, Berger T, Fujihara K, Itoyama Y, Lassmann H. Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. **Annals of Neurology**. 2009 Nov | 66(5):630-43. doi: [10.1002/ana.21837](https://doi.org/10.1002/ana.21837).

Manuskript in Überarbeitung:

Mader et al.*, In utero exposure to maternal anti-aquaporin-4 antibodies alters brain vasculature and neural dynamics in male offspring, **Sci Transl Med**.

doi: [10.1126/scitranslmed.abe9726](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abe9726).

***korrespondierender Autor**

*** geteilte Erstautorenschaft**

Buchkapitel:

36. Höftberger R, **Mader S**, Reindl M. Cerebrospinal fluid in Clinical Neurology, chapter Immunohistochemistry, CSF in Clinical Neurology, Edition: XIV, Chapter: Immunohistochemistry, Publisher: Springer, Editors: F Deisenhammer, F Sellebjerg, pp.143-158.

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-01225-4_12#main-content

37. **Mader S**, Obholzer B, Reindl M. Relevance of autoantibodies for the classification and pathogenesis of neurological diseases. InTech 2011.

doi: [10.5772/20517](https://doi.org/10.5772/20517).

Patent:

13.4.2017: Diamond B., **Mader S**, Brimberg L., Gregerson P.: Inhibition of autism spectrum disorder using decoy antigens to maternal brain-reactive antibodies, **U.S. Patent (PCT/US2016/054651)**.

D. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Martin Kerschensteiner für die großartige Chance und die bereichernde Atmosphäre am Institut für Klinische Neuroimmunologie und dafür, dass ich dort meine Nachwuchsgruppe im Bereich der ZNS-reaktiven Autoantikörper aufbauen kann.

Ich bin zutiefst dankbar für die großartige Unterstützung und das Mentoring von Prof. Dr. Edgar Meinl, der mir ermöglicht, gemeinsam an zahlreichen spannenden Projekten zu arbeiten und mich auch dabei unterstützt, meine eigene Forschungsnische aufzubauen und als Forscherin zu wachsen. Ich bedanke mich beim gesamten Team der AG Meinl für das gute Arbeitsklima und das nette Miteinander. Ich danke den Mitgliedern meiner Nachwuchsgruppe „CNS-reactive antibodies“, die mit ihrer eindrucksvollen Motivation und ihrer Freude an der Wissenschaft die Umsetzung unserer wissenschaftlichen Projekte ermöglichen.

Ein großes Dankeschön auch für die gute Zusammenarbeit mit der MS Klinik geht an Frau Prof. Dr. Tania Kümpfel und ihr Team, als auch an die verschiedenen Arbeitsgruppen am Institut für Klinische Neuroimmunologie. Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Reinhard Hohlfeld und Prof. Dr. Hartmut Wekerle für den regen wissenschaftlichen Austausch und ihre Unterstützung am Institut.

Für die Begleitung und Unterstützung bei der Habilitation möchte ich mich bei meinem Fachmentorat bedanken, bestehend aus Prof. Martin Kerschensteiner, Prof. Edgar Meinl und Prof. Uwe Ködel.

Während meiner PhD Zeit in Innsbruck betreute mich Prof. Dr. Markus Reindl großartig und er ist für mich weiterhin ein wichtiger Mentor. In diesem Arbeitsumfeld habe ich mein großes Interesse für die Forschung entdeckt und diese Zeit war für mich entscheidend, um die *akademische* Laufbahn einzuschlagen. Ich bedanke mich für die enge Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. Hans Lassmann und Prof. Dr. Monika Bradl vom Zentrum für Hirnforschung der Medizinischen Universität Wien.

Den Post Doc verbrachte ich im Labor von Frau Prof. Dr. Betty Diamond, die mich stark motiviert hat, meine Karriere in der Neuroimmunologie und insbesondere im Feld der Autoantikörper Forschung aufzubauen. Ich konnte während dieser Zeit in den USA sehr viele neue Techniken kennenlernen, die ich nun für meine zukünftigen Arbeiten im Autoantikörperfeld umsetzen möchte. Betty Diamond ist für mich ein großes Vorbild und unterstützt mich auch weiterhin. Sie hat mir auch vermittelt, dass man Familie und Beruf in der Wissenschaft vereinbaren kann.

Ein großer Dank gebührt meinen Eltern, die mir immer ein großes Vorbild waren, und auch meinen beiden Schwestern Katrin und Sarah und ihren Familien, für die Unterstützung und ihr großes Interesse an meiner Forschung.

Mein größter Dank gilt meinem Ehemann Dipl. Ing. Benjamin Obholzer, der mich während meiner gesamten wissenschaftlichen Karriere in Innsbruck, New York und München uneingeschränkt unterstützt hat. Danke auch für die zahlreichen graphischen Abbildungen für diverse Reviews und Präsentationen und die Bereitschaft mit mir nach New York und München zu kommen.

Bei unseren beiden Kindern, Leonard und Valentina, möchte ich mich für die wunderschöne und kostbare Zeit außerhalb des Labors bedanken.