

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

Direktor:

Prof. Dr. med. Martin Kerschensteiner

Neue Mechanismen autoinflammatorischer Syndrome

Kumulative Habilitationsschrift im Fach experimentelle Neuroimmunologie

vorgelegt von Dr. med. univ. Elisabeth Mulazzani, PhD (2024)

Inhaltsverzeichnis

A. EINLEITUNG	3
A.1. AUFBAU DES IMMUNSYSTEMS	3
A.2. PHÄNOTYP AUTOINFLAMMATORISCHER ERKRANKUNGEN	5
A.3. KLASSIFIKATION AUTOINFLAMMATORISCHER SYNDROME	7
B. ZIELSETZUNG DER HABILITATIONSRELEVANTEN ARBEITEN	9
B.1. INTERFERONOPATHIE: RETINALE VASKULOPATHIE UND ZEREBRALE LEUKODYSTROPHIE (RVCL).....	9
B.1.1. NACHWEIS EINER INTERFERON-ALPHA SIGNATUR BEI EINEM PATIENTEN MIT RVCL BEDINGT DURCH EINE <i>DE-NOVO</i> MUTATION IM <i>TREX1</i> GEN	11
B.1.2. RADIOLOGISCHE CHARAKTERISTIKA VON PATIENTEN MIT RVCL.....	12
B.2. INFLAMMASOMOPATHIE: CRYOPYRIN-ASSOZIIERTES PERIODISCHES FIEBERSYNDROM	14
B.2.1. NEUROLOGISCHES SPEKTRUM VON PATIENTEN MIT <i>NLRP3</i> VARIANTEN	16
B.2.2. DER <i>NLRP3</i> SPEZIFISCHE INHIBITOR MCC950 HEMMT EINE ÜBERSCHIEßENDE IL-1 β SEKRETION BEI CAPS PATIENTEN	19
B.3. AUTOINFLAMMATORISCHES SYNDROM MIT UNBEKANNTER URSACHE: AUTOINFLAMMATION UND PHOSPHOLIPASE Cg2 (PLCg2) - ASSOZIIERTES ANTIKÖRPERMANGEL UND IMMUNDYSREGULATION (APLAID)-SYNDROM.....	21
B.3.1. AUTOINFLAMMATION IN APLAID IST G-CSF VERMITTELT	24
C. DISKUSSION UND AUSBLICK	33
D. ZUSAMMENFASSUNG	35
E. LITERATUR	37
F. LEBENS LAUF.....	41
G. PUBLIKATIONS LISTE	44
H. DANKSAGUNG	47

A. EINLEITUNG

A.1. Aufbau des Immunsystems

Entzündungsvorgänge stellen eine adäquate Abwehr gegen Mikroorganismen sicher. Sie sind unerlässlich für die Erhaltung unserer körperlichen Integrität und unterliegen einer strikten Regulation. Kommt es allerdings zu einer Störung der Immunregulation, so kann es zu Immundysfunktionen kommen: entweder zu einer ineffektiven Immunabwehr oder zu einer überschießenden Immunreaktion in Form von Autoimmunität oder Autoinflammation (Grimbacher, Warnatz et al. 2016). Der Begriff Autoinflammation wurde 1999 durch McDermott eingeführt und 2006 von McGonagle verfeinert, wobei dieser neben einer Beschreibung der pathophysiologischen Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen Autoinflammation und Autoimmunität auch das Konzept eines Kontinuums beider Entitäten betonte (McDermott, Aksentijevich et al. 1999, McGonagle and McDermott 2006).

Charakteristisch für autoinflammatorische Erkrankungen sind systemische Entzündungsvorgänge aufgrund einer Fehlaktivierung des angeborenen Immunsystems (**Abb. 1a**). Unter physiologischen Bedingungen bietet das angeborene Immunsystem raschen Schutz gegen endogene (damage-associated molecular patterns, DAMPS) (Matzinger 1994) oder exogene (pathogen-associated molecular patterns, PAMPS) Gefahrensignale (Janeway and Medzhitov 2002). Durch die Aktivierung von membrangebundenen (Toll-Like Receptors, TLR) oder zytoplasmatischen Rezeptoren (Nod-Like Receptors, NLR) wird die inflammatorische Signalkaskade aktiviert, die für die systemischen Charakteristika der autoinflammatorischen Krankheiten verantwortlich ist (Akira, Uematsu et al. 2006).

Im Gegensatz dazu führt eine pathologische Aktivierung der erworbenen Immunantwort (T- und B Zellen) zum Verlust der Toleranz gegenüber eigenen Antigenen und zur

Entwicklung autoimmuner Erkrankungen (**Abb. 1b**). Autoimmunkrankheiten sind typischerweise durch den Nachweis spezifischer Autoantikörper oder autoreaktiver T-Zellen charakterisiert (Cohen 1973). Fokus der vorliegenden Arbeit ist das angeborene Immunsystem und die davon abgeleiteten Krankheiten, die autoinflammatorischen Syndrome, die auf wiederkehrende Entzündungsepisoden in Abwesenheit von eindringenden Pathogenen beruhen.

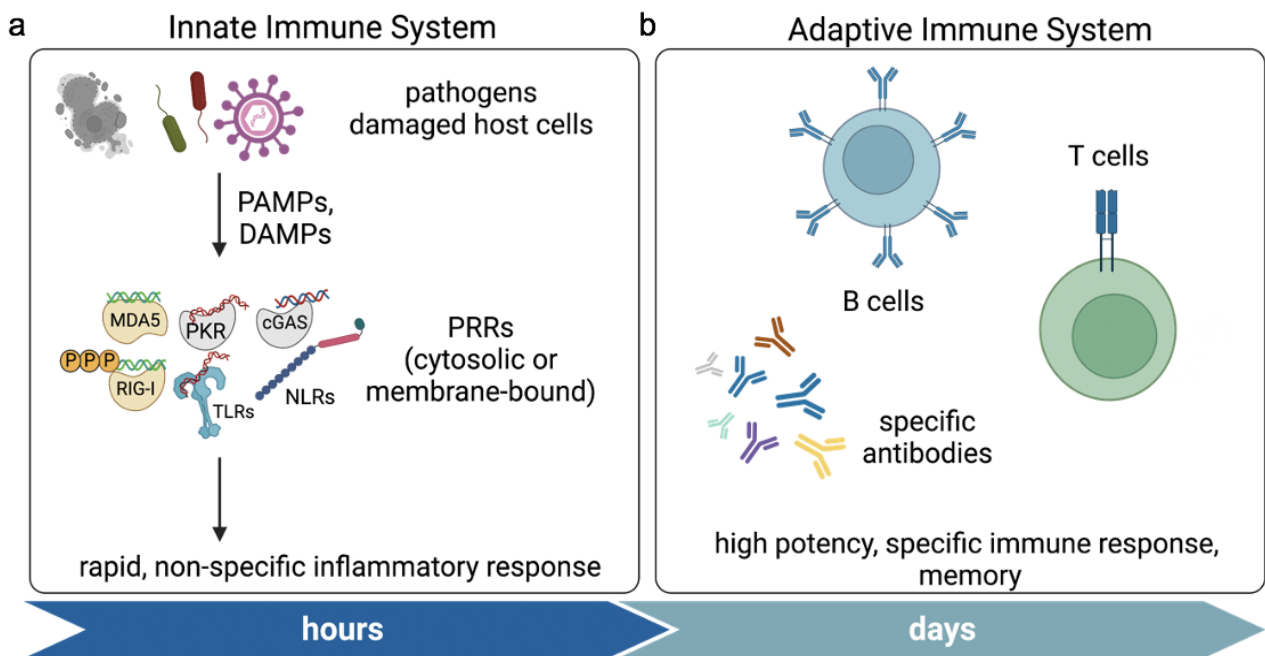


Abb. 1: a. Übersicht des menschlichen Immunsystems. Das angeborene Immunsystem stellt die erste Verteidigungslinie des menschlichen Körpers dar. Zytosolische und membranständige Mustererkennungsrezeptoren (Im Englischen „Pattern Recognition Receptor“, kurz PRRs) erkennen eindringende Pathogene auf der Grundlage konservierter molekularer Muster (Im Englischen „Pathogen-associated molecular pattern molecules“, kurz PAMPs), die üblicherweise auf Mikroorganismen exprimiert werden. PRRs erkennen auch endogene Gefahrensignale, die von beschädigten oder sterbenden Zellen (Im Englischen „Danger-associated molecular pattern molecules“, kurz DAMPs) freigesetzt werden, was eine schnelle, aber unspezifische pro-inflammatorische Reaktion auslöst. **b.** Während diese Reaktion, die bereits innerhalb von Stunden nach der Infektion auftritt, benötigt die hochpotente und sehr spezifische Immunantwort des adaptiven Immunsystems mehrere Tage, um sich zu entwickeln und wird durch die Aktivierung von B- und T-Zellen sowie die Bildung von Antikörpern vermittelt. Die dargestellte Abbildung wurde mit Biorender.com (2023) erstellt.

A.2. Phänotyp autoinflammatorischer Erkrankungen

Autoinflammatorische Erkrankungen bieten das klinische Bild einer intermittierenden, manchmal aber auch persistierenden systemischen Inflammation. Patienten leiden meist an selbstlimitierenden, oft sehr akut beginnenden Fieberepisoden. Typische Organmanifestationen umfassen Arthralgien, Myalgien, Polyserositis, Hautexantheme, Lymphknotenvergrößerungen, gastrointestinale Beschwerden und aseptische Meningitiden (**Abb. 2**). Insbesondere die neurologischen Defizite sind häufig nur unzureichend charakterisiert und reichen von der aseptischer Meningoenzephalitis über Hirnatrophie, zu Hydrozephalus, Innenohrschwerhörigkeit bis hin zu irreversiblen Sehverlust (Compeyrot-Lacassagne, Tran et al. 2009, Kalyoncu, Eker et al. 2010, Kitley, Lachmann et al. 2010, Parker, Keddie et al. 2016, Kilic, Sahin et al. 2019).

Laborchemisch imponiert eine unspezifische Erhöhung der Entzündungsmarker wie C-reaktives Protein (CRP) oder Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) ohne Nachweis spezifischer Autoantikörper. In den Intervallen zwischen zwei Erkrankungsschüben sind viele der Betroffenen beschwerdefrei, trotzdem können auch dann erhöhte Spiegel von Serum-Amyloid-A vorliegen, welche das Risiko für die Entwicklung einer Amyloidose erhöhen (Goldbach-Mansky and Kastner 2009). Erkrankungsbeginn liegt typischerweise im Kindesalter.

Autoinflammation

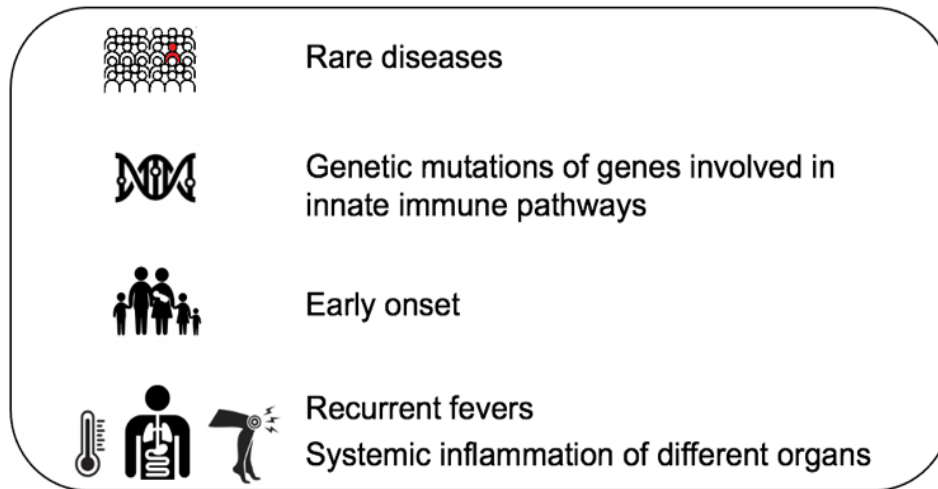


Abb.2: Phänotypische Charakteristika von autoinflammatorischen Syndromen (AIS). Typische Symptome umfassen systemische Entzündungen mit Multiorganbeteiligung, die zu schweren Schäden an lebenswichtigen Organen führen können. Zudem zählen AIS zu den seltenen, monogenetisch vermittelten Krankheitsbildern mit Beginn im Kindesalter.

A.3. Klassifikation autoinflammatorischer Syndrome

Autoinflammatorische Syndrome werden überwiegend monogenetisch vererbt. Basierend auf einer Überaktivierung einzelner Signalkaskaden bzw. der distinkten Freisetzung einzelner Zytokine, lassen sich autoinflammatorische Erkrankungen grob in drei verschiedene Gruppen einteilen: Interferonopathien, die auf einer von Typ-I-Interferon (IFN) Überaktivierung beruhen (**Abb. 3**) (Davidson, Steiner et al. 2018). Inflammasomopathien, werden durch Mutationen und einer damit verbundenen aberranten Signalkaskade in zytosolischen Multiproteinkomplexen, den Inflammasomen, verursacht (**Abb. 3**), welche eine erhöhte Ausschüttung von IL-1 β und IL-18 sowie eine Sonderform des Zelltodes, genannt Pyroptosis, bei Immunzellen zur Folge haben (Harapas, Steiner et al. 2018). Die dritte Kategorie umfasst NF- κ B medierte autoinflammatorische Syndrome, welche zu einer überschießenden Sekretion von Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6) führt (**Abb. 3**) (Steiner, Harapas et al. 2018). Trotz aller Anstrengungen gibt es bis dato auch autoinflammatorische Syndrome deren fehlgesteuerte Signalkaskade unbekannt ist. Die vorliegende Habilitationsarbeit befasst sich mit insgesamt drei unterschiedlichen autoinflammatorischen Syndromen: 1) Retinale Vaskulopathie und zerebrale Leukodystrophie (RVCL) bedingt durch Mutation im *TREX-1* Gen als Beispiel einer Interferonopathie; 2) das Cryopyrin-assoziiertes periodisches Fieberssyndrom (CAPS) verursacht durch genetische Varianten im *NLRP3* Gen, welches den Inflammasomopathien zuzuordnen ist. 3) Das autoinflammatorische Syndrom APLAID (Autoinflammation and PLC γ 2-associated antibody deficiency and immune dysregulation syndrom), dessen zugrundeliegender, aberranter Signalweg bislang nicht bekannt ist.

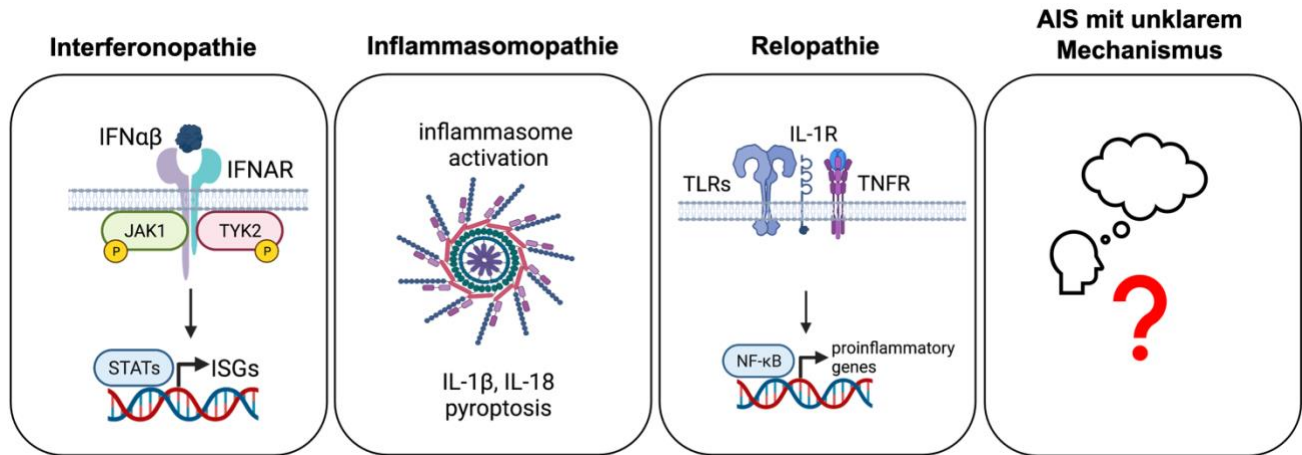


Abb.3: Molekulare Einteilung autoinflammatorischer Syndrome. Basierend auf der vorrangig aktivierten Signalkaskade und dem dominierenden Zytokinprofil lassen sich autoinflammatorische Syndrome in Interferono-, Inflammasomo-, Relopathien und in Erkrankungen mit unklarer Genese einteilen. Die Abbildung wurde mit Biorender.com (2023) erstellt.

B. Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten

B.1. Interferonopathie: Retinale Vaskulopathie und zerebrale Leukodystrophie (RVCL)

In den letzten 10 Jahren erweiterte sich das Spektrum von Typ-I-Interferon bedingten Erkrankungen rasant. Hierzu zählen u.a. Erkrankungen, die durch Mutationen im *TREX1* Gen (*TREX1* steht für „three prime repair exonuclease 1=DNase III“) (**Abb. 4**), das auf Chromosom 3p21.31 lokalisiert ist, verursacht werden (Lee-Kirsch, Gong et al. 2007). Das *TREX1* Gen kodiert für ein Kernprotein mit 3'-5'-Exonuklease Aktivität (Richards, van den Maagdenberg et al. 2007). Diese Nuklease spielt eine Rolle bei der DNA Reparatur und ist im Sinne einer Korrekturlesefunktion für die DNA-Polymerase (Perrino, Miller et al. 1994) zu verstehen. Als Folge resultieren Mutationen im *TREX1* Gen in einer konstitutiven Aktivierung der Typ-I Interferon Achse (**Abb. 5**). Klinische Krankheitsbilder, die durch Mutationen im *TREX1* Gen bedingt sind, umfassen die retinale Vaskulopathie mit zerebraler Leukodystrophie (RVCL) (Stam, Kothari et al. 2016), das Aicardi-Goutières Syndrom (Goutieres 2005) und den familiären Chilblain Lupus (Rice, Patrick et al. 2007), wobei RVCL Gegenstand der vorliegenden Habilitationsschrift ist. Klinisch-pathologisch handelt es sich bei RVCL um eine Endotheliopathie der kleinen Gefäße, die zu Organschäden u.a. an Augen, Niere und im zentralen Nervensystem führt (**Abb. 4**). In der zerebralen Magnetresonanztomographie (MRT) finden sich typischerweise tumefaktive Läsionen oder einzelne periventrikuläre Läsionen in der weißen Substanz (Stam, Kothari et al. 2016). Der Erkrankungsbeginn liegt typischerweise in der 4.-5. Lebensdekade (**Abb. 4**). Das Überleben nach Diagnosestellung beträgt im Mittel 10 Jahre. Eine kausale Therapie ist nicht vorhanden (Stam, Kothari et al. 2016).

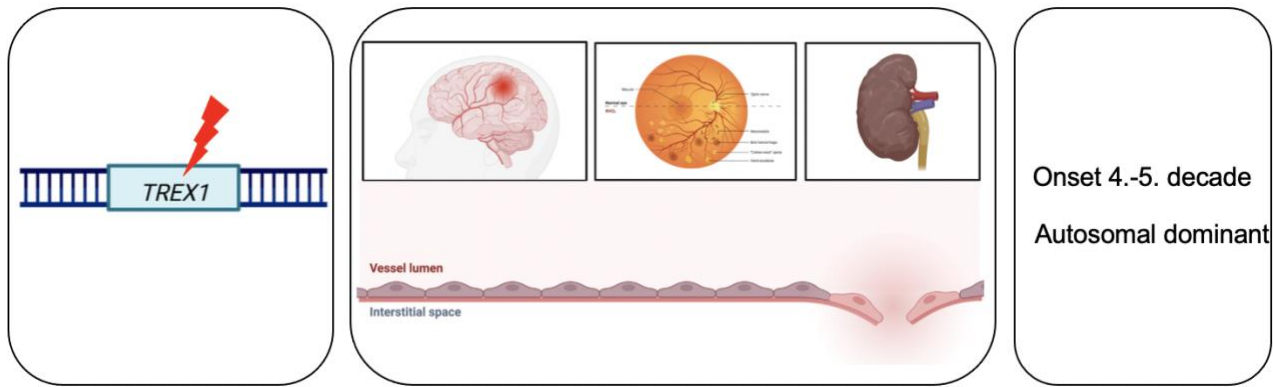


Abb.4: Geno- und Phänotyp von RVCL. RVCL ist durch Mutation im TREX1 Gen verursacht und imponiert klinisch als Endothelopathie der kleinen Gefäße. Die Abbildung wurde mit Biorender.com (2023) erstellt.

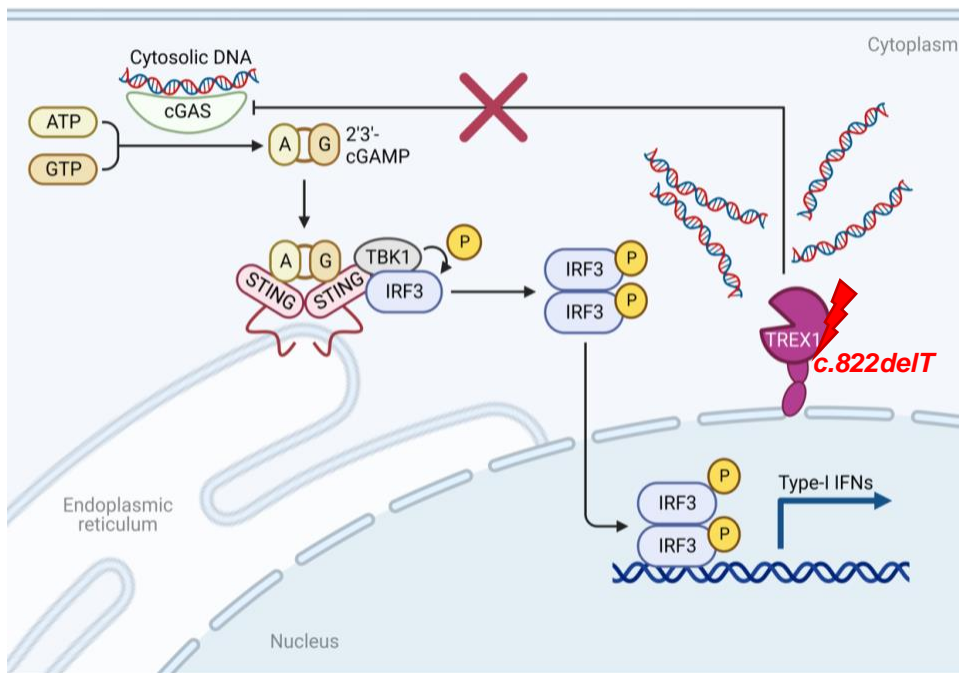


Abb.5: Darstellung der aberranten Signalkaskade bei RVCL. Mutationen in der TREX1 Exonuklease führen zur Akkumulation von zytosolischer DNA, die die cGAS-STING Signalkaskade aktiviert. Die Aktivierung des IFN-Signalweges mündet dann in der Phosphorylierung der Transkriptionsfaktoren IRF3 oder IRF7, die ihrerseits die Typ-I-Interferone (IFN) Transkription induzieren. Typ-I-IFN werden dann aus der Zelle freigesetzt und wirken autokrin oder parakrin, indem sie an den Typ-I-IFN Rezeptor binden. Die Signaltransduktion erfolgt durch Tyrosinkinase und resultiert in der Phosphorylierung von STAT-Transkriptionsfaktoren, die ihrerseits die Transkription von Hunderten von IFN stimulierten Genen, kurz ISGs, induzieren. IFN=Interferone; cGAS=cyclic GMP-AMP Synthase; STING=stimulator of interferon genes; IRF=Interferon regulatory factor; TBK1=TANK-binding kinase 1; GTP=Guanosin Triphosphat; STAT=Signal transducer and activator of transcription
Die dargestellte Abbildung wurde von der Vorlage „cGAS Detects Cytosolic DNA“ Biorender.com (2023) adaptiert.

B.1.1. Nachweis einer Interferon-alpha Signatur bei einem Patienten mit RVCL bedingt durch eine *de-novo* Mutation im *TREX1* Gen

In einer Kasuistik konnten wir erstmals eine Hochregulierung von Typ-I Interferonen sowie Interferon stimulierten Genen in Blutzellen eines Patienten mit RVCL detektieren (**Abb. 6**). Diese Erkenntnis ist von enormer klinischer Bedeutung, da die Anwendung von Januskinase (JAK) Inhibitoren, welche auf die Blockade des Interferonsignalwegs abzielt, sich möglicherweise günstig auf den Verlauf von RVCL auswirken könnte. Zudem konnten wir mit unserer Fallbeschreibung das phäno-und genotypische Spektrum von *TREX1* bedingten Erkrankungen erweitern (Schuh, Ertl-Wagner et al. 2015).

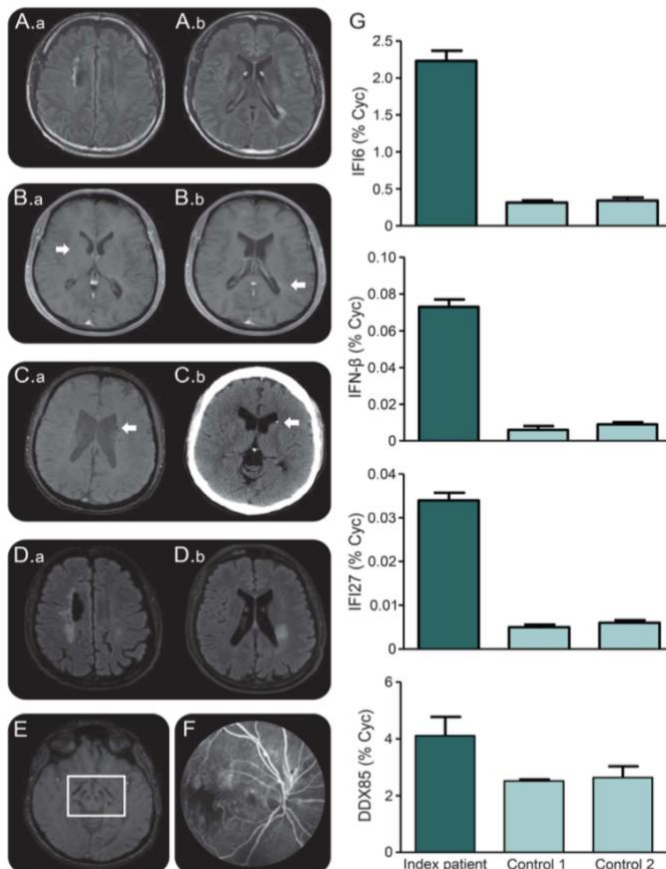


Abb.6: Phänotypische Charakteristika eines Patienten mit RVCL (aus (Schuh, Ertl-Wagner et al. 2015)).
 Links: Zerebrale MRT sowie Fluoreszenzangiographie mit Nachweis von Cotton-Wool Spots. Rechts: Hochregulierung von Interferon-β und Interferon-stimulierten Genen in PBMCs des Indexpatienten.

B.1.2. Radiologische Charakteristika von Patienten mit RVCL

In einer erweiterten Fallserie von sechs Patienten mit RVCL, allesamt bedingt durch Genmutationen in *TREX1*, konnten wir spezifische radiologische Charakteristika herausarbeiten (**Abb. 7, 8**). So ließen sich in allen Patienten fleckenförmige, T2-hyperintense Läsionen der weißen Substanz, v.a. periventrikulär im Frontallappen, nachweisen. Zudem ließen sich bei allen Patienten mit RVCL sogenannte “rim-lesions” mit Diffusionsrestriktion detektieren. Die mittlere Dauer der durchlässigen Blut-Hirn-Schranke betrug im Mittel 20 Monate. Die Erkenntnisse aus dieser Studie sind vor allem differentialdiagnostisch zur Abgrenzung von chronisch-entzündlichen ZNS Erkrankungen sowie Raumforderungen von Bedeutung (Hedderich, Lummel et al. 2020).

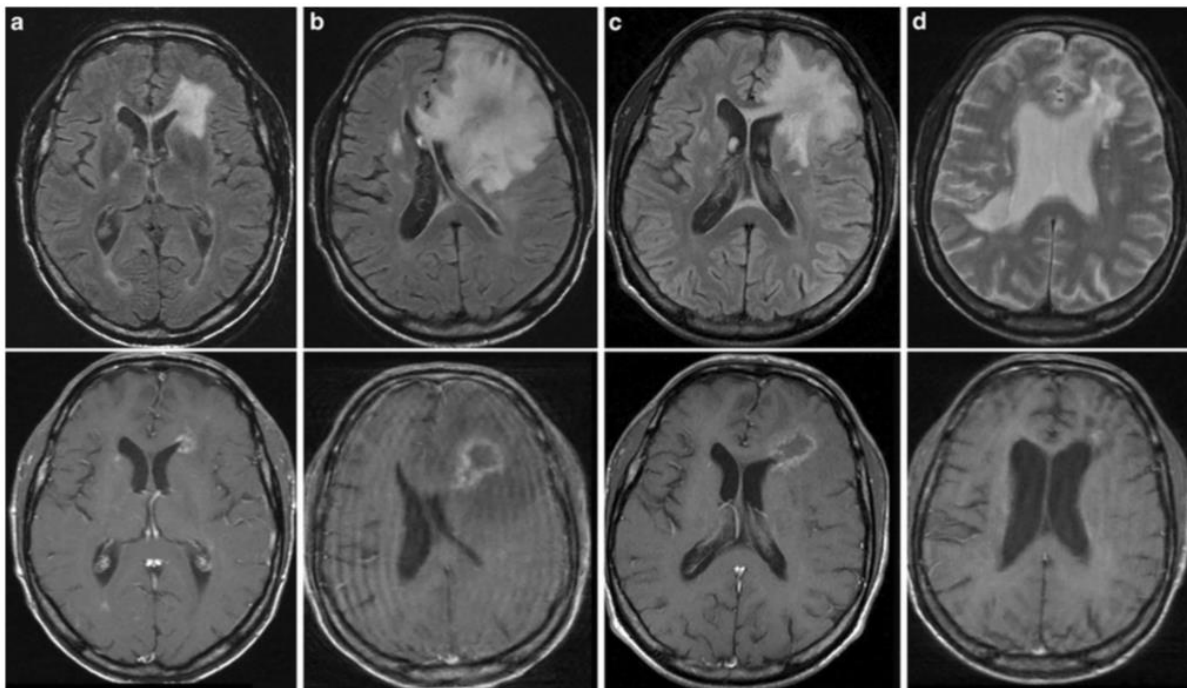


Abb.7: Untersuchungen mittels zerebraler MRT bei RVCL (aus (Hedderich, Lummel et al. 2020)). Die zerebrale MRT eines Patienten mit RVCL zeigt eine randständige Läsion ohne raumfordernden Effekt. Die obere Reihe zeigt axiale T2-FLAIR-Sequenzen (**a, c**) oder T2W-TSE-Sequenzen (**b, d**). Die untere Reihe umfasst kontrastverstärkte T1 Sequenzen. Eine konfluierende Hyperintensität der periventrikulären weißen Substanz findet sich vor allem an den Vorderhörnern der Seitenventrikel. Neben dem linken Vorderhorn des Seitenventrikels ist eine Läsion ohne relevanten Raumforderungseffekt zu sehen. Kleinere Kontrastmittel anreichernde Läsionen finden sich angrenzend an den hinteren Teil des linken Seitenventrikels und in der tiefen weißen Substanz der linken Hemisphäre (**a**). Nach drei Monaten vergrößerte sich die Läsion am linken Vorderhorn (**b**). Nach fünf Monaten blieb die Läsion in Größe und Aussehen stabil (**c**) und nach weiteren 2 Monaten kam die Läsion verkleinert zur Darstellung (**d**).

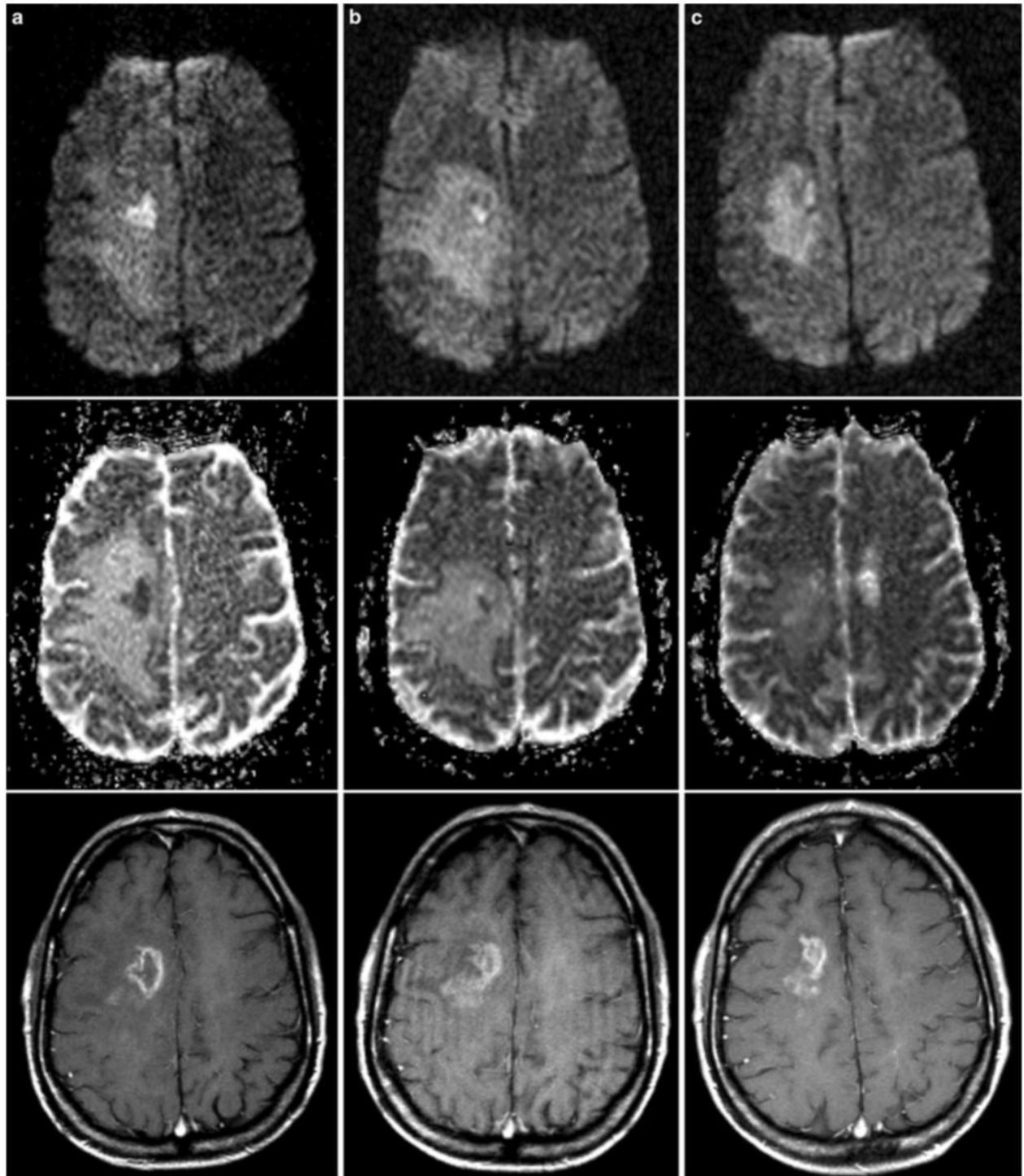


Abb.8: Darstellung der Diffusionsbeschränkung bei RVCL (aus (Hedderich, Lummel et al. 2020)). Die obere Reihe zeigt das b1000-Bild, die mittlere Reihe den entsprechenden Diffusionskoeffizienten (ADC) und die untere Reihe das T1W-Bild nach Kontrastmittelgabe. Eine singuläre Läsion mit zentraler Diffusionsrestriktion ist im initialen MRT am rechten Frontallappen (a) und bei der Follow-up MRT (b) zu sehen. Bei einer Kontrolluntersuchung nach 8 Monaten (c) ist die zentrale Diffusionsrestriktion nicht mehr vorhanden.

B.2. Inflammasomopathie: Cryopyrin-assoziiertes periodisches Fiebersyndrom

Das *NLRP3* Gen codiert für das NLRP3 Inflammasom, welches durch die Aktivierung von Procaspase-1 die Aktivierung und Freisetzung von Interleukin-1beta (IL-1 β) verursacht (Masters, Simon et al. 2009). Mutationen im *NLRP3* Gen (**Abb. 9**), das auf Chromosom 1q44 lokalisiert ist, verursachen CAPS (Stojanov and Kastner 2005), welches mit unterschiedlichen Schweregraden assoziiert ist: Muckle-Wells-Syndrom (urtikarielle Exantheme) (Muckle 1979), FCAS (familial cold-associated autoinflammatory syndrome) (Stojanov and Kastner 2005), NOMID (Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease) (Kilcline, Shinkai et al. 2005) und CINCA (Chronic Infantile Neurologic Cutaneous and Articular Syndrome) (Feldmann, Prieur et al. 2002).

Mechanistisch führen Gefahrensignale zur Aktivierung des NLRP3 Inflammasoms, um dann Pro-Caspase-1 in Caspase-1 zu spalten, die wiederum Pro-IL-1 β und Pro-IL-18 in ihre aktiven Formen spaltet. IL-1 β und IL-18 werden als Folge sezerniert. Gain-of-function Mutationen in Inflammasom Komponenten wie sie bei CAPS zu finden sind, führen zur überschießenden IL-1 β - bedingten Autoinflammation (**Abb. 10**). Die Ausschüttung von IL-1 β ist u.a. für das zentrale Symptom – Fieber – verantwortlich und setzt gleichzeitig andere Signalkaskaden in Bewegung, die zur Vervollständigung des klinischen Bildes führen (Goldbach-Mansky and Kastner 2009). Die zentrale und klinisch relevante Rolle von IL-1 β wurde vor allem durch den therapeutischen Erfolg der Blockade dieses Zytokins bei CAPS belegt (Ombrello and Kastner 2011).

Als Triggerfaktoren für die Schübe gelten u.a. Inflammasom-aktivierende Substanzen. Hierzu zählen Bakterienbestandteile, aber auch exogene Noxen wie Silikon oder Asbest

und endogene Signale gestresster oder apoptotischer Zellen wie ATP, Cholesterinkristalle, Harnsäure, Hyperglykämie (Goldbach-Mansky 2012).

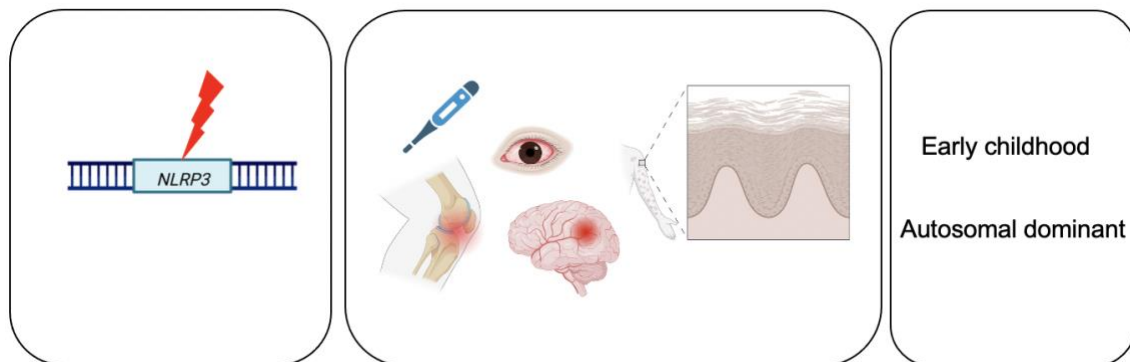


Abb.9: Geno- und Phänotyp von CAPS. Gain-of-function Mutationen im NLRP3 Inflammasom verursachen CAPS und zeichnen sich klinisch durch multisystemische Entzündungen aus, die in schweren Fällen auch das Nervensystem betreffen. Die dargestellte Abbildung wurde mit Biorender.com (2023) erstellt.

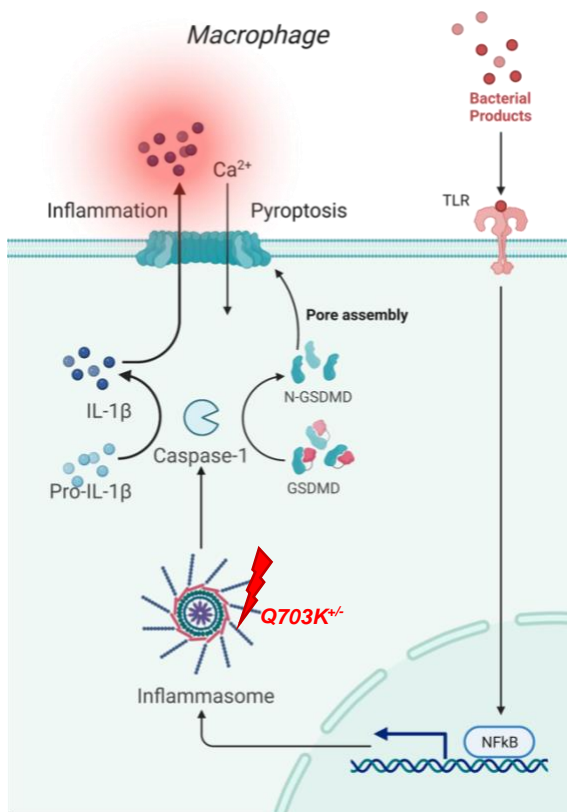


Abb.10: Zusammenfassung der aberranten Signalkaskade bei CAPS. Mutationen im NLRP3 Inflammasom führen zur Spaltung von Pro-Caspase-1 in die aktive Form der Caspase-1, die wiederum Pro-IL-1 β und Pro-IL-18 in ihre aktiven Formen spaltet und so Autoinflammation vermittelt. Folgende Abbildung wurde von der Vorlage „Suppression of Inflammasome by IRF4 and IRF8 is Critical for T Cell Priming“ Biorender.com (2023) adaptiert.

B.2.1. Neurologisches Spektrum von Patienten mit *NLRP3* Varianten

In den letzten Jahren konnten wir in mehreren Arbeiten die Häufigkeit und Bedeutung der Beteiligung des peripheren und zentralen Nervensystems bei periodischen Fiebersyndromen verdeutlichen. Neben distinkten, klinischen Charakteristika konnten wir u.a. zeigen, dass der Erkrankungsbeginn bei Patienten mit Mutationen von niedriger Penetranz nicht zwingend im Kindesalter liegt – wie in der Literatur beschrieben- sondern sich als sogenannte „Late-Onset“ Form auch erst im Erwachsenenalter manifestieren kann und anders als bei den klassischen Mutationen das Symptom Fieber oft fehlen kann. In einer umschriebenen Kohorte von 108 Patienten aus unserer neuroimmunologischen Spezialambulanz identifizierten wir 17 Patienten mit V198M oder Q703K Mutationen im *NLRP3* Gen (**Abb. 11-13**). Klinisch manifestierten sich bei den Mutationsträgern häufig schwere Kopfschmerzsyndrome. Bei ca. der Hälfte der Patienten wurde zusätzlich eine Multiple Sklerose (MS) diagnostiziert, wohingegen bei den restlichen Patienten der klinische Phänotyp durch teilweise, rezidivierende Hirnnervenausfälle charakterisiert war (**Schuh, Lohse et al. 2015**).

Clinical characteristics	<i>NLRP3</i> + (n = 17)	<i>NLRP3</i> - (n = 91)	Significance, uncorrected p value	Significance, corrected p value
CN affection (n = 108)	10/17 (59%);	12/91 (13%);	0.00014	0.00111
	7/8 non-MS patients (88%)	10/47 non-MS patients (21%)	0.00062	0.00501
Headache (n = 108)	11/17 (65%)	29/91 (32%)	0.01400	0.11199
Uveitis/conjunctivitis (n = 108)	6/17 (35%)	10/91 (11%)	0.01907	0.15255
Urticarial rash (n = 108)	7/17 (41%)	10/91 (11%)	0.00531	0.04248
Arthralgias (n = 108)	13/17 (76%)	18/91 (20%)	0.00001	0.00009
Myalgias (n = 108)	8/17 (47%)	3/91 (3%)	0.00001	0.00007
MS (n = 108)	9/17 (53%)	44/91 (48%)	0.79541	6.36327

Abbreviations: CN = cranial nerve; MS = multiple sclerosis.

Abb.11: Zusammenfassung der klinischen Charakteristika von *NLRP3* Mutationsträgern mit niedriger Penetranz (aus (Schuh, Lohse et al. 2015)). CN=Cranial nerve, MS=Multiple sclerosis

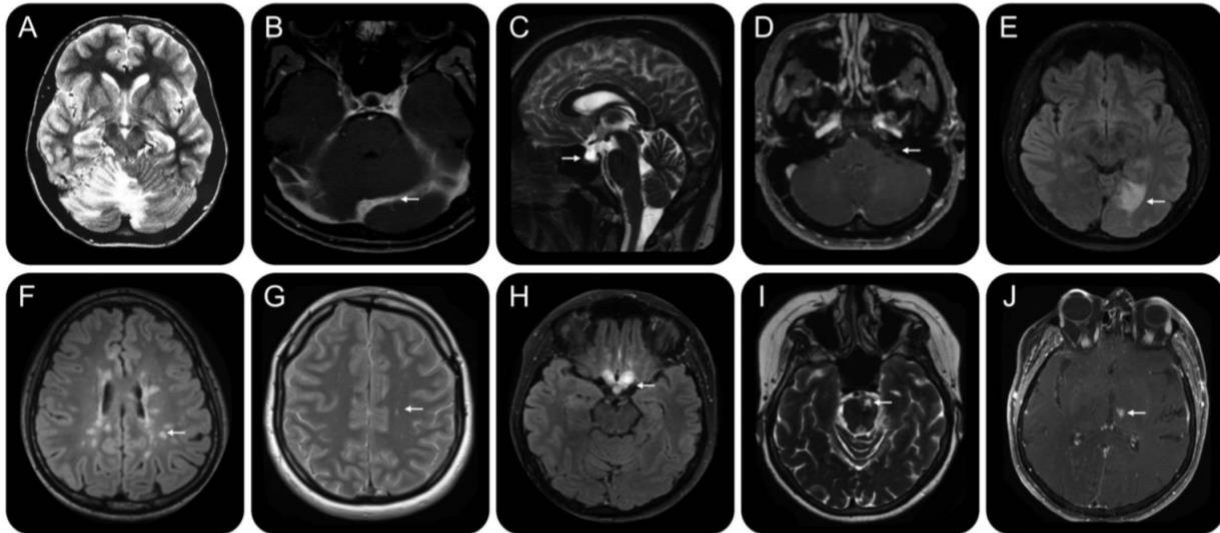


Abb.12: Neuroradiologisches Spektrum von NLRP3 Mutationsträgern (aus (Schuh, Lohse et al. 2015)). Abbildungen A–E zeigen den Indexpatienten: MRT-Scans während der Adoleszenz im Jahr 1999 zeigten Anzeichen einer ausgeprägten zerebellären sowie tentoriellen Entzündung mit Granulomatose-ähnlicher Struktur und intrazerebraler Schwellung; ein axiales T2-gewichtetes Bild von 1999 zeigt ein ausgeprägtes Ödem mit Signalhyperintensitäten in der rechten Kleinhirnhemisphäre, im Vermis und in geringerem Maße in der linken Kleinhirnhemisphäre (A). Im April 2011 zeigt sich in einem axialen T1-gewichteten, fettgesättigten Bild nach intravenöser Gabe eines gadoliniumhaltigen Kontrastmittels eine deutliche Tentoriumsverdickung mit ausgeprägtem Enhancement (B); ein sagittales T2-gewichtetes Bild zum gleichen Zeitpunkt zeigt Zeichen einer chronischen intrakraniellen Hypertonie mit vergrößerten Nervenscheiden um die Sehnerven (nicht gezeigt) und einer "empty sella" (Pfeil; C); ein axiales T1-gewichtetes, fettgesättigtes Bild nach IV-Gabe eines gadoliniumhaltigen Kontrastmittels zeigt zu diesem Zeitpunkt eine leichte Hirnnervenentzündung mit leichter Kontrastmittel Anreicherung des Nervus vestibulocochlearis (D). Im Dezember 2011 wurde, während der Anakinra Therapie, im MRT eine neue meningoenzephalitische Läsion identifiziert (axial fluid-attenuated inversion recovery [FLAIR]-Bild; E). Das untere Feld zeigt das neuroradiologische Spektrum bei anderen Patienten aus unserer Kohorte mit CAPS. (F) Axiales FLAIR-Bild (Jahr 2013) bei der Patientin Nummer 14 mit der Diagnose Multiple Sklerose (MS), die mehrere typische hyperintense Läsionen der weißen Substanz in der periventrikulären Region und der Korona radiata zeigt. (G) Im Gegensatz dazu zeigt das axiale T2-gewichtete Bild (Jahr 2013) bei Patient Nr. 3 mit Migräne unspezifische Läsionen der weißen Substanz ohne Hinweise auf eine Ausbreitung in Zeit und Raum und erfüllt somit nicht die diagnostischen Kriterien für MS. (H) Die axiale FLAIR-Sequenz (Jahr 2014) zeigt eine ausgeprägte Schwellung des Chiasmas und des Hypophysenstiels bei Patient 5. (I) Die T2-gewichtete axiale Sequenz (Jahr 2014) zeigt eine hyperintense Läsion im linken vorderen pontomesenzephalen Übergang. (J) Axiales T1-gewichtetes, fettgesättigtes Bild (Jahr 2014) nach intravenöser Gabe eines gadoliniumhaltigen Kontrastmittels zeigt eine Läsion im linken vorderen Thalamus (gleicher Patient wie Panel I).

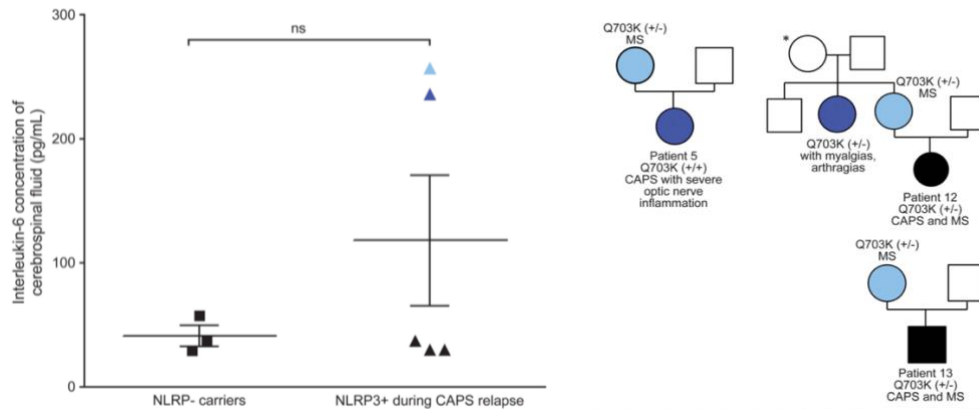


Abb.13: Nachweis von erhöhtem IL-6 im Erkrankungsschub sowie Darstellung von Multiplexfamilien mit CAPS Varianten (aus (Schuh, Lohse et al. 2015)). Links: Messung der Interleukin-6 Konzentration im Liquor. Bei zwei Mutationsträgern (Patient 1 im dunkelblauen Dreieck und Patient 5 im hellblauen Dreieck mit der Q703K-Variante in heterozygoter [+/-] und homozygoter [+/+] Form) waren 66 Spiegel im Liquor während einer akuten Exazerbation von CAPS bezogenen ZNS Symptomen erhöht, wohingegen bei anderen Mutationsträgern (dargestellt durch schwarze Dreiecke) während einer akuten CAPS-Exazerbation erhöhte IL-6 Spiegel im Liquor im Vergleich zu Kontrollen ohne Mutationen im NLRP3-Gen fehlten (schwarze Quadrate; n = 3). Der p-Wert unterschied sich nicht signifikant (ns = nicht signifikant), wie durch den Mann-Whitney-U-Test erfasst wurde. Rechts: Stammbäume von drei Multiplexfamilien mit NLRP3 Mutationen und konkomitanter MS. Die jeweiligen NLRP3 Mutationen sind angegeben. Patienten mit klinischem CAPS und Multipler Sklerose (MS) sind durch gefüllte schwarze Symbole dargestellt; Patienten mit CAPS alleine werden durch dunkelblaue Symbole dargestellt; Patienten mit MS ohne CAPS-Symptome sind durch hellblaue Symbole dargestellt. * = positive Anamnese für CAPS Symptome; +/+ = homozygot, +/- = heterozygot.

B.2.2. Der NLRP3 spezifische Inhibitor MCC950 hemmt eine überschießende IL-1 β Sekretion bei CAPS Patienten

NLRP3 Mutationen mit niedriger Penetranz werden mit ähnlicher Häufigkeit bei Patienten und bei gesunden Personen beobachtet. Um die klinische und funktionelle Bedeutung dieser Varianten zu erheben, untersuchten wir den Zellüberstand auf eine überschießende Ausschüttung der pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF- α nach Stimulation von Blutzellen von *NLRP3* Mutationsträgern im Vergleich zu gesunden Kontrollen (**Abb. 14**). Interessanterweise fanden wir eine erhöhte Ausschüttung aller untersuchten pro-inflammatorischen Zytokine. Zudem konnten wir die Sekretion von IL-1 β spezifisch dem *NLRP3* Inflammasom durch die Anwendung von MCC950, welcher gezielt und ausschließlich das *NLRP3* Inflammasom blockiert (**Schuh**, Gross et al. 2019), zuordnen.

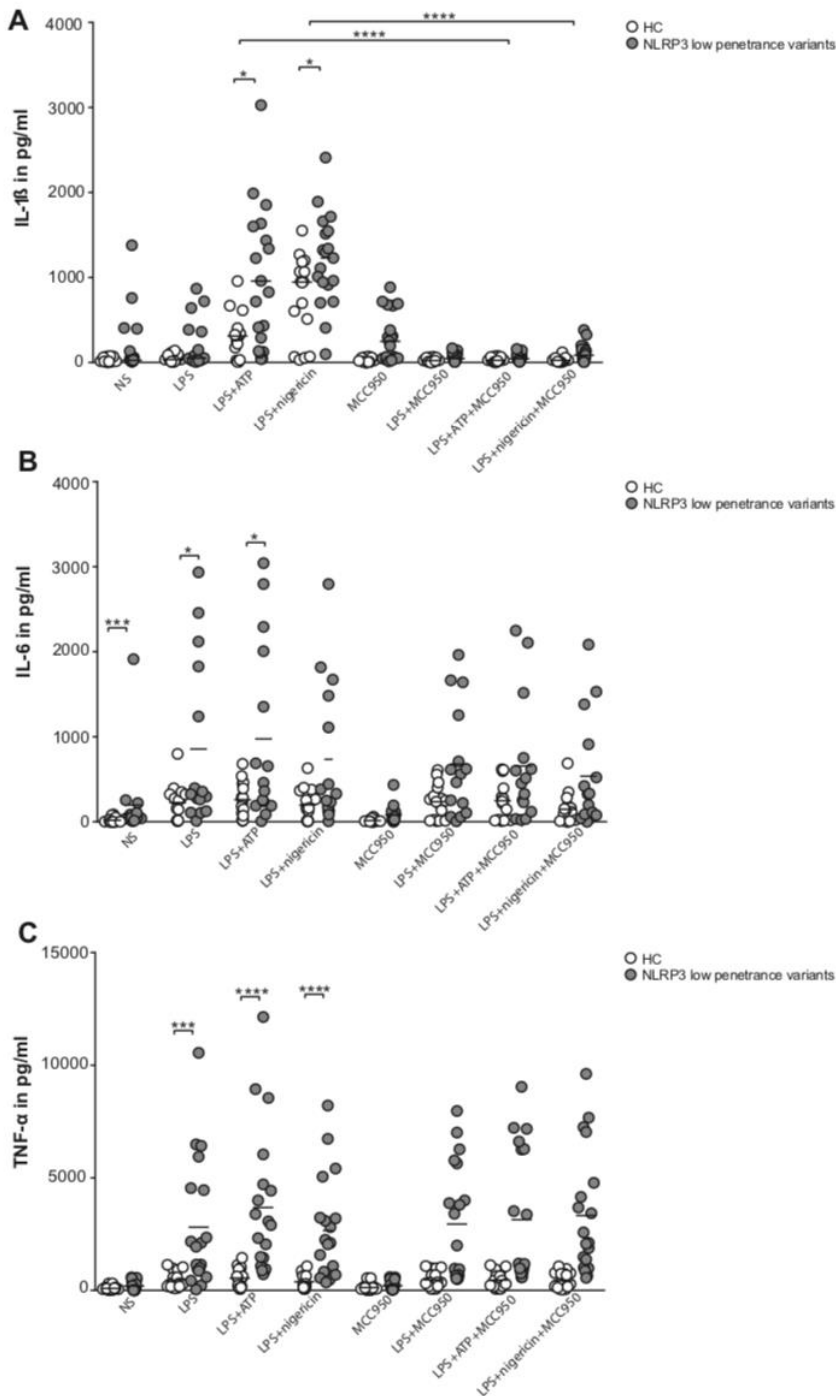


Abb.14: Patienten mit nachgewiesenen NLRP3 Varianten zeigen eine erhöhte NLRP3-abhängige Aktivierung der Inflammasom Signalkaskade (aus (Schuh, Gross et al. 2019)). (A) Quantifizierung der IL-1 β Sekretion mittels ELISA im Zellüberstand. PMBC wurden entweder nicht stimuliert (NS), mit LPS allein oder mit LPS in Kombination mit ATP/Nigericin mit oder ohne MCC950 behandelt. Weiße Punkte: HC (n=16), graue Punkte: NLRP3 Varianten mit geringer Penetranz (n=19). (B) Darstellung der IL-6 (n = 15) und (C) TNF- α (n = 19) Ausschüttung von HC (n = 16) und NLRP3 Varianten, die wie oben ausgeführt stimuliert wurden. Weiße Punkte: HC, graue Punkte: NLRP3-Varianten mit geringer Penetranz. Daten mit Mittelwerten sind als Scatterplots dargestellt, Mann-Whitney-U-Test; *<0,05, *<0,01, ****<0,001, *****<0,0001. CRP=C-reaktives Protein, SAA=Serum-Amyloid-A, HC=Healthy Controls.**

B.3. Autoinflammatorisches Syndrom mit unbekannter Ursache: Autoinflammation und Phospholipase C γ 2 (PLC γ 2) - assoziiertes Antikörpermangel und Immundysregulation (APLAID)-Syndrom

PLC γ 2 ist auf Chromosom 16q24.1 lokalisiert und kodiert für ein Transmembransignalenzym, das die Umwandlung von 1-Phosphatidyl-1D-myo-inositol 4,5-bisphosphat in 1D-myo-inositol 1,4,5-trisphosphat (IP₃) und Diacylglycerin (DAG) unter Verwendung von Kalzium als Ko-faktor katalysiert (Hernandez, Egan et al. 1994). IP₃ und DAG fungieren ihrerseits als Botenstoffe, die für die Signalübertragung durch die Zellmembran wichtig sind (**Abb. 15, links**) (Berridge 1993, Hernandez, Egan et al. 1994, Nishizuka 1995). Gain-of-function Mutationen in diesem Gen sind mit einem Syndromkomplex aus Autoinflammation, Antikörpermangel und Immundysregulation (APLAID) (Zhou, Lee et al. 2012) assoziiert, während erworbene Mutation u.a. bei Tumoren (Quinquenel, Fornecker et al. 2019) und Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphismen, SNPs) im Zusammenhang mit Neurodegeneration entdeckt wurden (**Abb. 15, rechts; Abb. 16**) (van der Lee, Conway et al. 2019). APLAID Patienten leiden typischerweise an wiederkehrenden blasenbildende Hautläsionen, Lungenerkrankungen, Arthralgien, entzündlichen Augen- und Darmerkrankungen und einer leichten Immunschwäche (**Abb. 17**). Laboranalysen von Patienten mit APLAID zeigen verringerte IgM-, IgG- und IgA-Spiegel und eine reduzierte Menge an "class-switched" B-Gedächtniszellen bei normaler NK- und T-Zellzahl und gleichzeitig erhöhter Anzahl an Neutrophilen/Monozyten im Blut (**Abb. 18**) (Jackson, **Mulazzani** et al. 2021). Pathophysiologisch wurde bei APLAID eine mögliche NLRP3 Inflammasom Aktivierung diskutiert (Chae, Park et al. 2015). Bis heute gibt es keine kausale Behandlung für APLAID. Patienten waren bislang therapierefraktär gegenüber der Behandlung mit TNF- α -Inhibitoren

und sprachen nur teilweise auf den IL-1 Rezeptorantagonisten Anakinra an (Martin-Nalda, Fortuny et al. 2020).

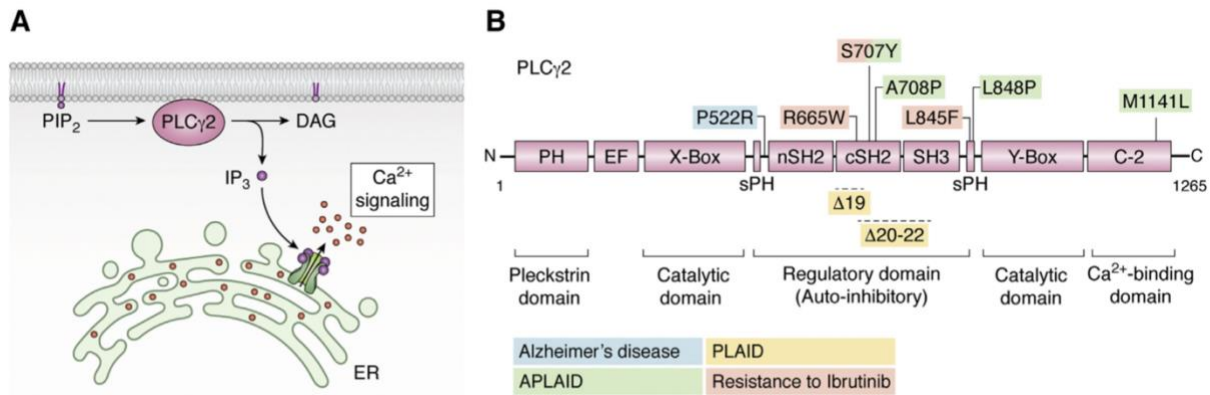


Abb.15: Signalkaskade und Struktur von PLC_γ2 (aus (Jackson, Mulazzani et al. 2021)). (A) PLC_γ2 gehört zu einer Gruppe von intrazellulären Enzymen, die das Membran-Phospholipid Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂) zu Diacylglycerol (DAG) und Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP₃) spalten, was zu einer erhöhten Calciumsignalisierung führt. (B) PLAID verursachende genomische Deletionen (Δ19 und Δ20–22) und APLAID-assoziierte somatische Mutationen befinden sich innerhalb der regulatorischen Domäne (S707Y, L848P, A708P) oder in der C2-Domäne (M1141L) von PLC_γ2. Erworbene Mutationen als Folge der BTK-Hemmung (S707Y, L845F) und der schützenden P522R-Variante bei der Alzheimer-Krankheit finden sich in der regulatorischen Domäne von PLC_γ2. APLAID, PLC_γ2-assoziiertes Antikörpermangel und Immundysregulation mit Autoinflammation; C, Carboxylterminus; N, Aminotermis; PLAID, PLC_γ2-assoziiertes Antikörpermangel und Immundysregulation; PLC_γ2, Phosphatidylinositol-spezifische Phospholipase C_γ2.

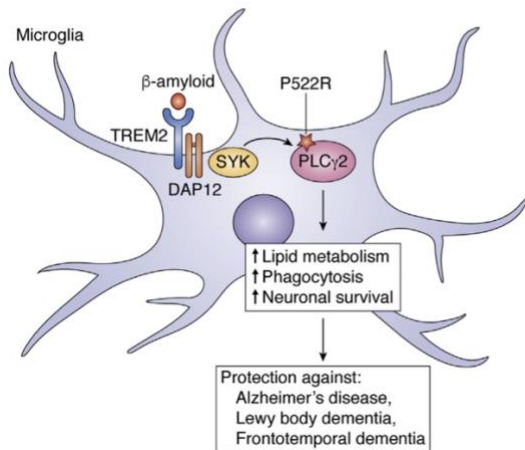
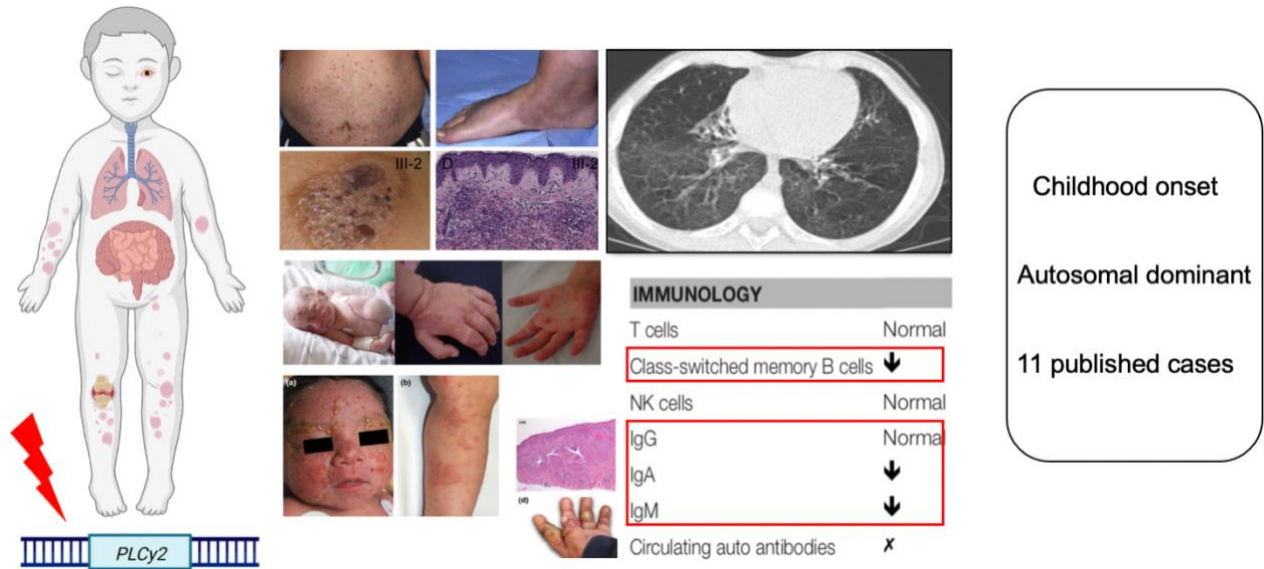


Abb.16: Die PLC_γ2 Variante P522R schützt vor Neurodegeneration (aus (Jackson, Mulazzani et al. 2021)). Im Gehirn wird die γ2-Isoform überwiegend von Mikroglia exprimiert. Bei Aktivierung durch TREM2 unterstützt die PLC_γ2-Variante P522R den Fettstoffwechsel, die Phagozytose und das Überleben und schützt so vor der Alzheimer-Krankheit (AD), der Lewy-Körperchen-Demenz und der frontotemporalen Demenz (FTD).



Childhood onset
 Autosomal dominant
 11 published cases

Abb.17: Geno- und Phänotyp von APLAID. Abbildung erstellt mit Biorender (2023).com. Patientenbilder sowie Labordaten stammen aus publizierten APLAID Kasuistiken (Zhou, Lee et al. 2012, Neves, Doffinger et al. 2018, Moran-Villasenor, Saez-de-Ocariz et al. 2019, Martin-Nalda, Fortuny et al. 2020, Novice, Kariminia et al. 2020).

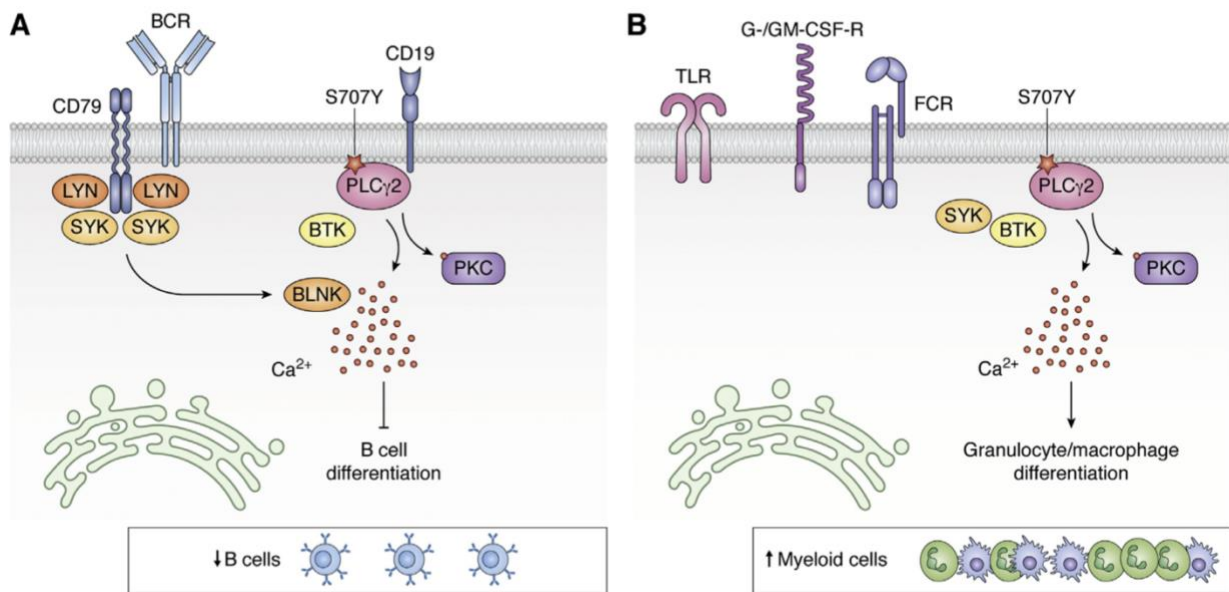


Abb.18: Übersicht der zellulären Effekte von PLCγ2 Mutationen (aus (Jackson, Mulazzani et al. 2021)). Bei APLAID führen PLCγ2 Mutationen einerseits zu (A) einer stärkeren BCR-Signalkaskade, die sich negativ auf die B-Zellentwicklung auswirkt und andererseits (B) zu einer erhöhten Produktion von Granulozyten und Makrophagen. *=geteilte Erstautorenschaft

B.3.1. Autoinflammation in APLAID ist G-CSF vermittelt

Durch die Generierung eines neuen Mausmodells (**Abb.19**), welches eine humane APLAID Mutation (p.S707Y) trägt, fanden wir, dass sich die entzündlichen Infiltrate in Haut und Lunge nur teilweise nach Deletion von Caspase-1 besserten (**Abb.20**) (**Mulazzani, Kong et al. 2023**). Auch die genetische Deletion von IL-6 oder TNF konnte APLAID Tiere nicht komplett vor dem Erkrankungsbeginn schützen (**Abb.20**). Insgesamt spiegeln diese Ergebnisse aus unserem präklinischen Modell das schlechte Therapieansprechen durch die Blockade von IL-1 β , JAK1/2 oder TNF bei APLAID Patienten wider. Weitere Zytokinanalysen zeigten zu unserer Verwunderung erhöhte Werte des Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktors (G-CSF) sowohl bei APLAID Tieren als auch bei Patienten (**Abb.21**). Bemerkenswerterweise konnte eine bereits fortgeschrittene Erkrankung bei APLAID Versuchstieren durch die Behandlung mit einem monoklonalen anti-G-CSF Antikörper (**Abb.22**) bzw. mittels Knochenmarkstransplantation (**Abb.23**) vollständig rückgängig gemacht werden. Neben einer offensichtlichen klinischen und histopathologischen Verbesserung normalisierten sich auch die für APLAID typische erhöhte Myelo- und verminderte Lymphopoese (**Mulazzani, Kong et al. 2023**).

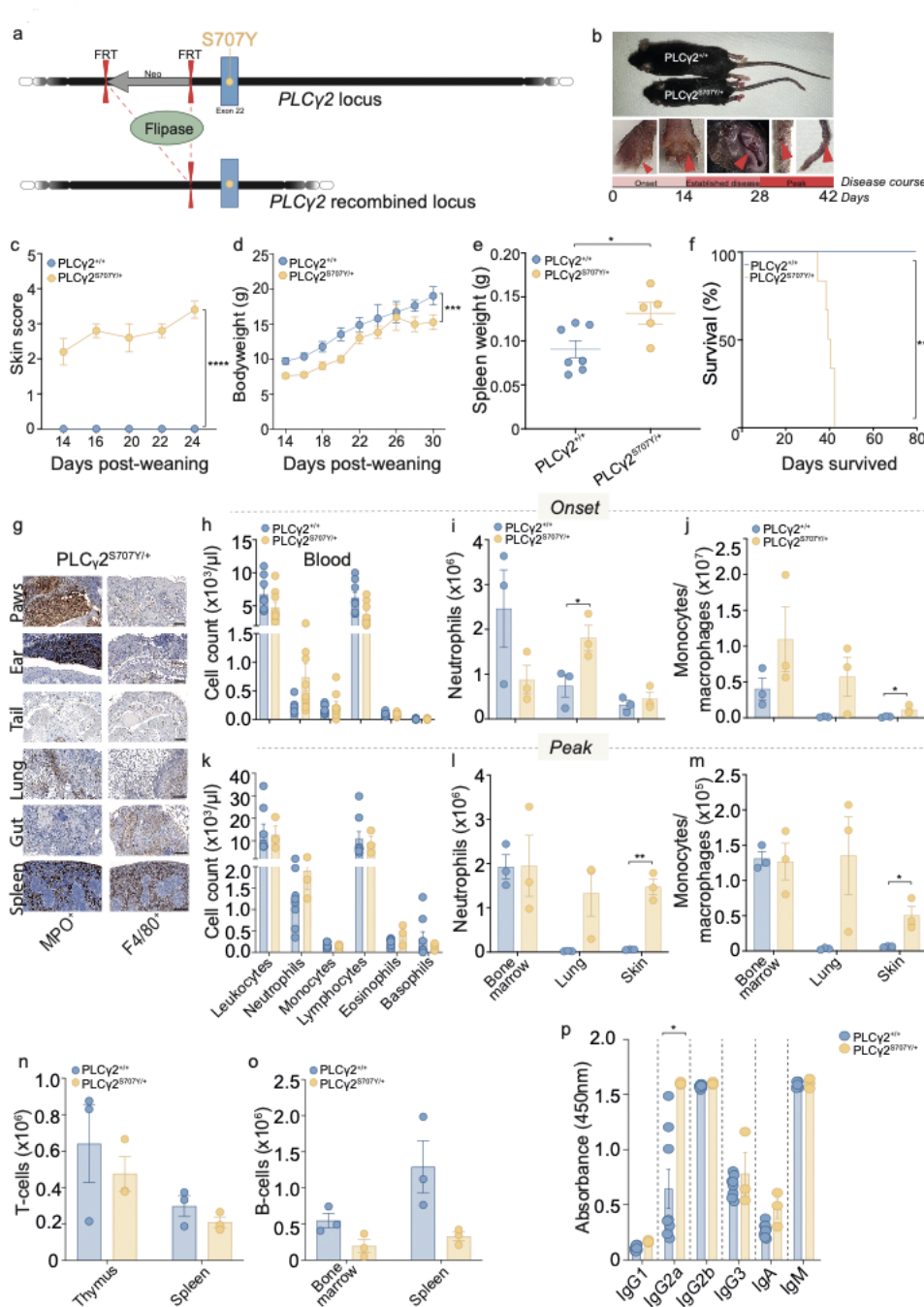


Abb.19: Phänotyp von Mäusen, die eine humane APLAID Mutation in PLCγ2 (p.S707Y) aufweisen (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)). a) Schema der Fip-Exzision am PLCγ2-Lokus. Die Zucht wurde mit C57BL/6 Fip-Deleter Mäusen etabliert, um die Neomycin-Stop Selektionskassette herauszuschneiden und heterozygote Mäuse, die die humane p.S707Y Mutation tragen, zu erzeugen. b) PLCγ2^{S707Y/+} Mäuse erleiden typischerweise Hautläsionen. c) Die Schwere der entzündlichen Hautinfiltrate wird durch einen APLAID-Haut-Score von 2 auf einer Skala von 0–5 reflektiert. d) Eine Wachstumskurve zeigte eine verkümmerte Gewichtszunahme von PLCγ2^{S707Y/+} Mäusen. e) PLCγ2^{S707Y/+} Tiere weisen zudem eine Splenomegalie auf. f) Die Kaplan-Meier-Analyse zeigt maximale Überlebensraten von sechs Wochen bei PLCγ2^{S707Y/+} Tieren. g) Eine histopathologische Untersuchung zeigte die Infiltration myeloischer Immunzellen in Haut, Lunge, Darm, Milz. Repräsentative immunohistochemische Schnitte mit MPO⁺ und F4/80⁺ Färbungen sind gezeigt. h)

Während des Krankheitsbeginns zeigt sich im Blut eine erhöhte Anzahl von Neutrophilen und eine leichte Abnahme von Lymphozyten. **i-j)** FACS Analysen im Gewebe detektieren eine erhöhte Anzahl von Monozyten/Makrophagen in der Haut zu Beginn der Erkrankung, während die Anzahl der Neutrophilen im Knochenmark reduziert schien. **k)** Im weiteren Krankheitsverlauf normalisieren sich die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Blut. **l-m)** Eine FACS Analyse der Haut und Lunge zeigt eine erhöhte Anzahl myeloider Zellen bei Fortschreiten der APLAID Erkrankung. **n-o)** Die FACS Analyse von Lymphozytensubtypen ergab normale T-Zellen (Thymus, Milz) und reduzierte B-Zellen (Knochenmark, Milz) im Vergleich zu PLC γ 2^{+/+} Tieren. **p)** Die Quantifizierung von Immunglobulin Subtypen, gemessen durch ELISA, zeigt abnormale Immunglobulin Werte im Vergleich zu den Kontrollen.

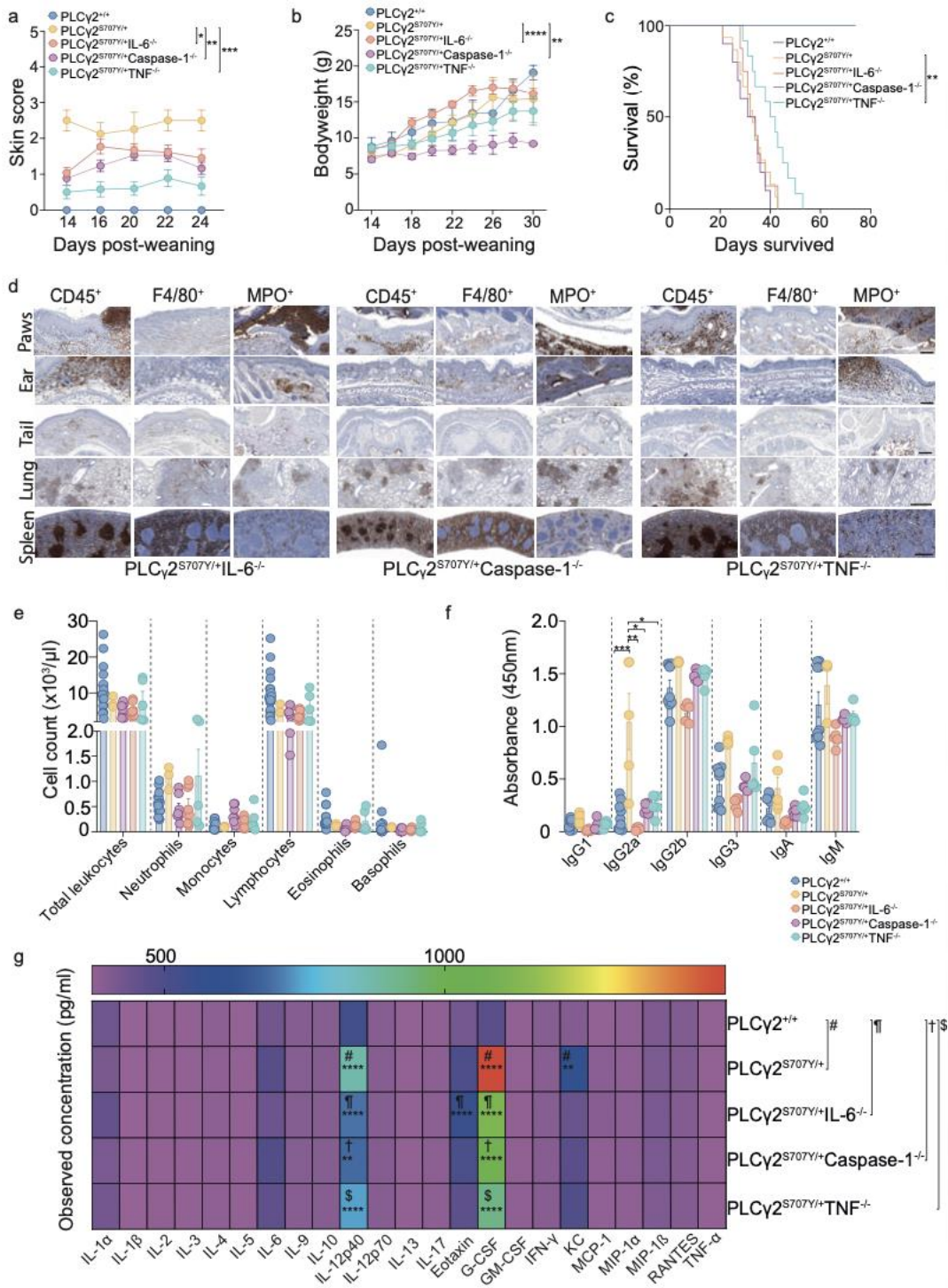


Abb.20: Minimale Besserung des APLAID Phänotyps nach Deletion von IL-6, Caspase-1 oder TNF sowie Überproduktion von G-CSF im APLAID Mausmodell (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)). a) Ein klinischer APLAID-Haut Score zeigt eine anhaltende, aber abgeschwächte Hautentzündung bei den verschiedenen PLCy2^{S707Y/+} Knock-out Mäusen. b) Eine Wachstumskurve wies eine verkümmerte Gewichtszunahme auf. c) In einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve weisen PLCy2^{S707Y/+} Knock-out Tiere im Vergleich zu PLCy2^{+/+} Kontrollen eine beeinträchtigte Überlebensrate auf. d) Infiltrate von Immunzellen persistieren in der Haut, Lunge, Darm, Milz in allen Knock-out Tieren. Repräsentative immunhistochemische Schnitte von CD45⁺, MPO⁺ und F4/80⁺ sind gezeigt. e) Im Blut finden sich variable Neutrophilenzahlen und

leicht verminderte Lymphozyten. **f)** Die Quantifizierung von Immunglobulin Subtypen, gemessen durch ELISA, zeigt abnormale Werte ähnlich wie bei $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Tieren. **g)** Eine Zytokin Bestimmung durch einen Multiplex-Assay im Plasma von $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ und verschiedenen Knock-out Mäusen zeigt erhöhte Werte von G-CSF, gefolgt von IL-12p40 und Eotaxin. Heatmap-Farben repräsentieren mittlere Zytokinwerte.

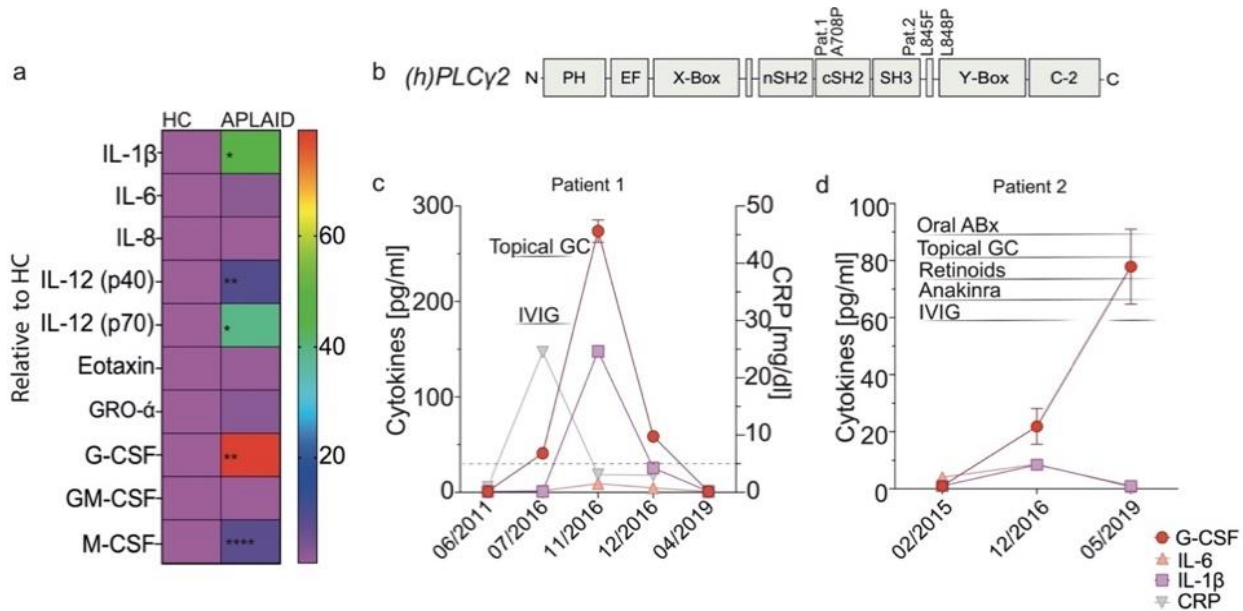


Abb.21: G-CSF ist bei Patienten mit APLAID erhöht (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)). a) Eine Zytokinbestimmung durch einen Multiplex-Assay in Seren von zwei APLAID Individuen zeigt eine relative Erhöhung von G-CSF, gefolgt von erhöhten Spiegeln von IL-1β, IL-12 und M-CSF im Vergleich zu gesunden Kontrollen (2 APLAID Patienten und 10 Kontrollen). Die Farbkartierung der Zytokin-Heatmap stellt Mittelwerte relativ zur Kontrolle in pg/ml dar. **b)** Darstellung der Proteinschema und Patientenmutationen in $PLC\gamma 2$. **c-d)** Zytokin- und CRP Verlauf von APLAID Individuen (Pat. 1 S. A708P und Pat. 2 S. L845F/848P) unter verschiedenen Behandlungsschemata zeigen eine anhaltende Erhöhung von G-CSF in Patientenseren. Die gestrichelte Linie repräsentiert den Grenzwert für abnormale CRP Werte.

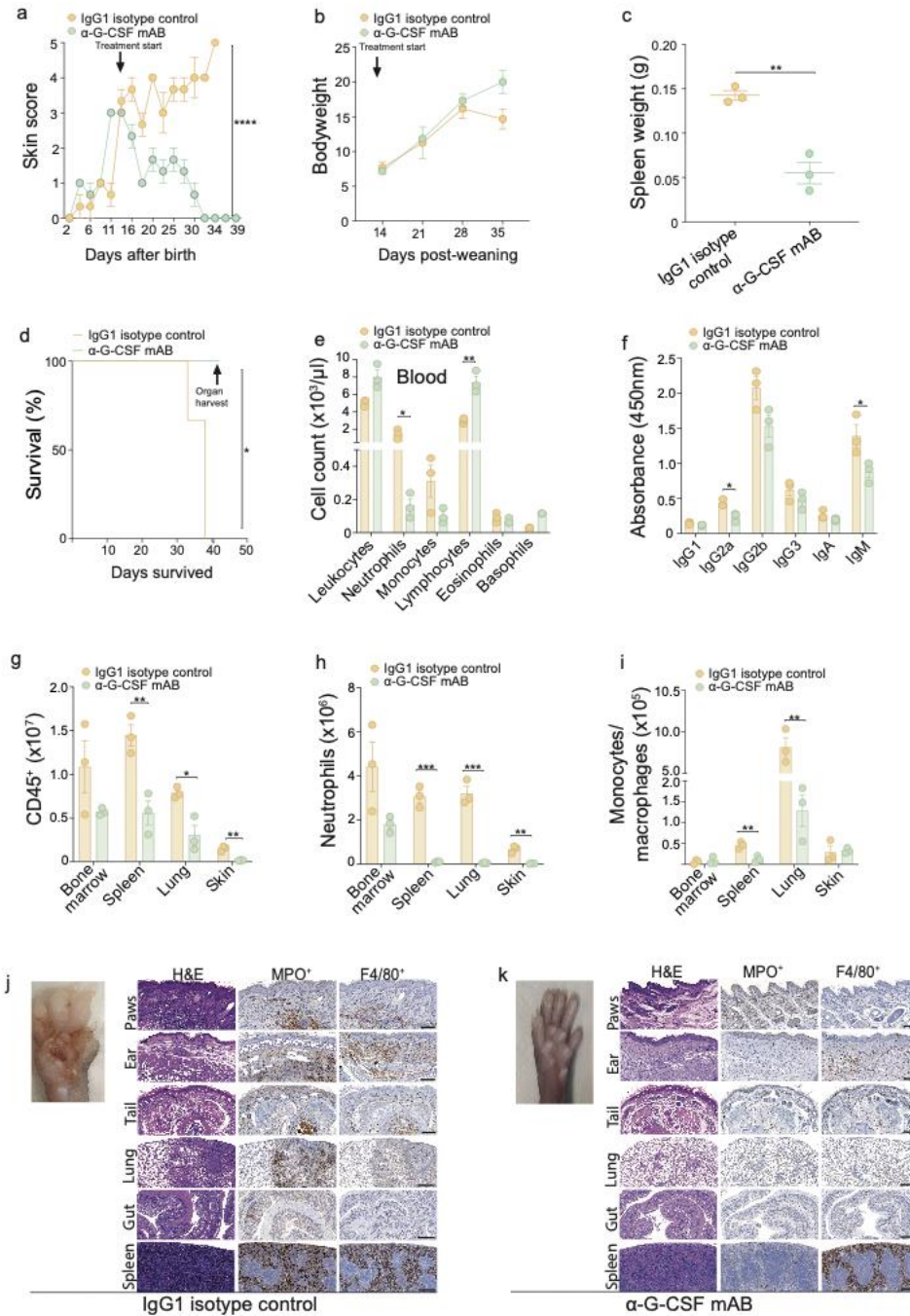


Abb. 22: Blockade von G-CSF heilt $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Versuchstiere von Autoinflammation und Immundefizienz nach Symptombeginn (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)). a) Die In-vivo Blockade (Pfeil markiert Injektionszeitpunkt) mittels einem monoklonalen anti-G-CSF Antikörper heilt $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Mäuse von Autoinflammation (APLAID-Haut-Score von 0 auf einer Skala von 0–5) nach einer 4-wöchigen Behandlungsdauer im Vergleich zu $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Mäusen, denen eine geeignete IgG1 Isotypkontrolle injiziert wurde. b) Eine Wachstumskurve zeigt eine stetige Gewichtszunahme von $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Mäusen nach G-CSF-Blockade während der wöchentlichen Bewertungen. c) $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Tiere, die mit anti-G-CSF Antikörper behandelt wurden, zeigen keine Splenomegalie. d) Die Kaplan-Meier-Analyse detektiert die höhere Überlebensrate von $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ nach G-CSF Blockade im Vergleich zu $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$, die mit einer IgG1

Isotypkontrolle behandelt wurden. **e)** Eine automatisierte Analyse von Immunzellen zeigt eine reduzierte Neutrophilen- und eine erhöhte Lymphozytenzahl bei $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Tieren nach G-CSF Neutralisierung. **f)** Die Quantifizierung von Immunglobulin Subtypen, gemessen durch ELISA, zeigt reduzierte Spiegel in $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Tieren unter anti-G-CSF Therapie. **g-i)** Die FACS Analyse zeigt eine verringerte Anzahl von Leukozyten und myeloiden Zellen, insbesondere von Neutrophilen ($Ly6G^+CD11b^+$) in allen Organen hinweg, einschließlich Knochenmark, Milz, Haut, Lunge. **j-k)** Immunzellinfiltrate sind in Haut, Lunge, Darm, Milz in anti-G-CSF behandelten Mäusen im Vergleich zur Isotypkontrolle nur spärlich nachweisbar. Dargestellt sind repräsentative immunhistochemische Schnitte von HE, MPO⁺ bzw. F4/80⁺ Färbungen.

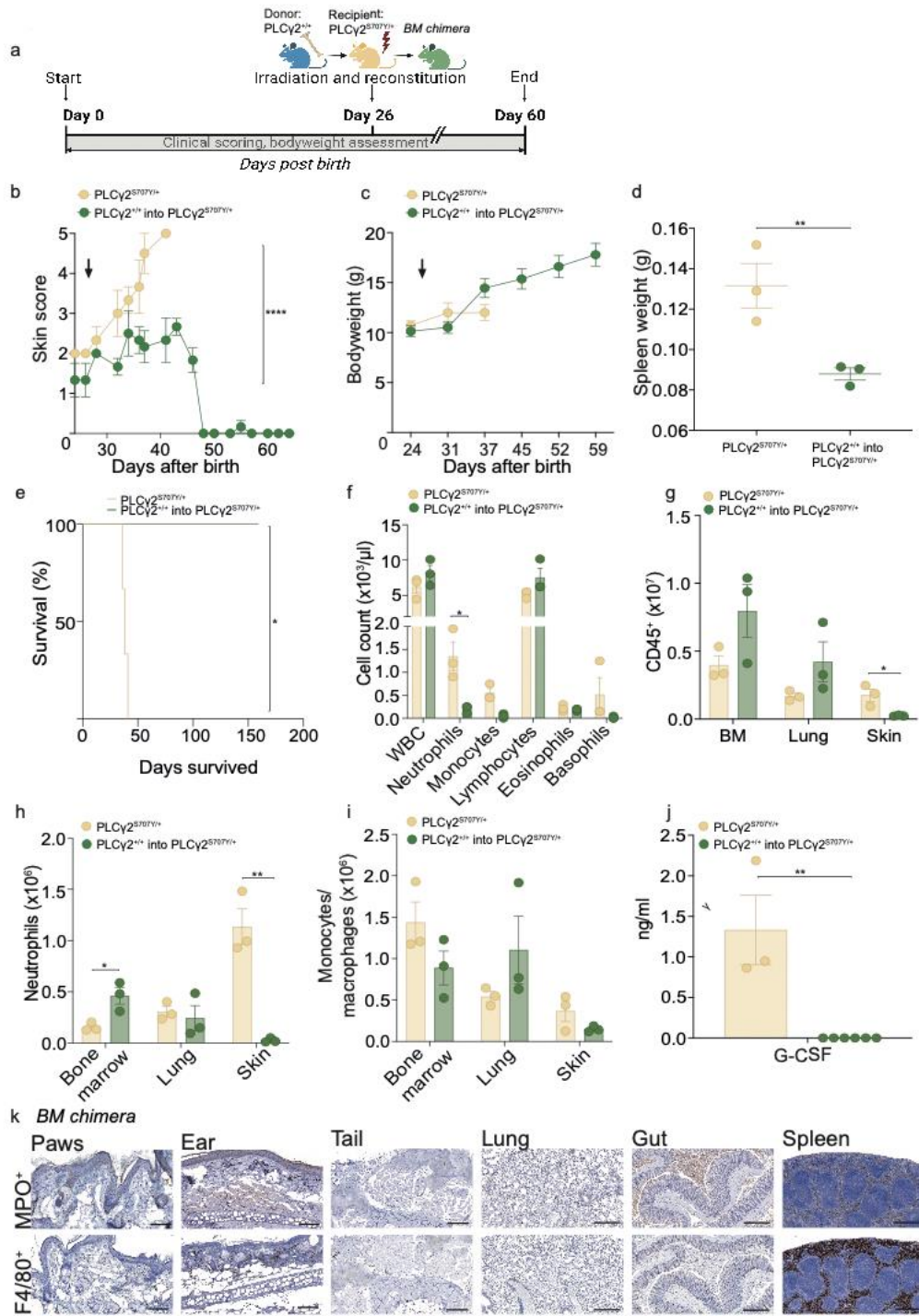


Abb. 23: Eine Knochenmarkstransplantation mit gesunden Spenderzellen normalisiert die G-CSF Spiegel und heilt PLC γ 2^{S707Y/+} Versuchstiere von einer APLAID Erkrankung (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)). a) Schema der Knochenmarkchimäre (in grün). PLC γ 2^{+/+} (in blau) sind der Spender für bestrahlte PLC γ 2^{S707Y/+} Empfänger (gelb). Einzelzellsuspensionen von BM-Zellen (1x10⁶/ml) werden durch i.v. Injektion in die Empfängertiere drei Stunden nach der Bestrahlung injiziert. b) Der APLAID-Haut Score zeigt den fehlenden autoinflammatorischen Phänotyp bei Knochenmarkschimären, die ein gesundes Transplantat erhalten haben. Der Pfeil zeigt den genauen Zeitpunkt der Bestrahlung sowie die

Knochenmarkstransplantation, die ca. 26 Tage nach der Geburt ($n=3-4$ Mäuse pro Gruppe an) stattfand. **c)** Die Wachstumskurve zeigt eine stetige Gewichtszunahme bei den Knochenmarkschimären. **d)** Den Knochenmarkschimären fehlten vergrößerte Milzen ($n=3-4$ Mäuse pro Gruppe). **e)** Eine Kaplan-Meier Überlebenskurve zeigt verlängerte Überlebensraten im Vergleich zu $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Mäusen ($n=3-4$ Mäuse pro Gruppe). **f)** Eine Analyse der Blutzellen zeigt reduzierte Neutrophilen/Monozyten und erhöhte Lymphozytenzahlen bei $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Mäusen nach Knochenmarkstransplantation mittels eines gesunden Spenders ($n=3-4$ Mäuse pro Gruppe). **g-i)** FACS Analysen zeigen eine verringerte Anzahl von myeloiden Zellen, insbesondere von Neutrophilen ($Ly6G^+CD11b^+$) im Hautgewebe ($n=3-4$ Mäuse pro Gruppe). **j)** Quantifizierung von Plasma G-CSF Spiegel, gemessen durch ELISA, zeigt normalisierte Werte ($n=3-6$ Mäuse pro Gruppe). **k)** Histopathologisch sind in den Knochenmarkschimären spärliche Immunzellinfiltrate in Haut, Lunge, Darm, Milz nachweisbar. Repräsentative Immunhistochemieschnitte von MPO^+ und $F4/80^+$ Färbungen sind dargestellt. Fehlerbalken stellen den Mittelwert \pm SEM dar. Die statistische Signifikanz für den Haut-Score wurde durch eine ANOVA-Analyse bestimmt. Die statistische Signifikanz für longitudinale Gewichtsdaten wurde durch einen gepaarten t-Test bestimmt. Signifikanzen zwischen zwei Gruppen wurden durch einen ungepaarten Student's t-Test bestimmt. Die statistische Signifikanz für die Überlebenskurve wurde durch einen Mantel-Cox-Test verifiziert.

C. Diskussion und Ausblick

Autoinflammatorische Syndrome sind selten, die Diagnosestellung erfordert häufig eine multidisziplinäre Zusammenarbeit. Eine sorgfältige Erhebung der Kranken- sowie Familienanamnese ist unerlässlich, um diese seltenen Patienten zu identifizieren und um ihnen eine adäquate Therapie zu gewährleisten. Unsere Studienergebnisse im Hinblick auf Interferono- und Inflammasomopathien erbrachten nicht nur wichtige Erkenntnisse zur Pathogenese, sondern auch hinsichtlich der Anwendung neuer Behandlungsstrategien. So kann basierend auf unseren Daten bei RVCL eine Therapie mit JAK Inhibitoren (**Schuh**, Ertl-Wagner et al. 2015) und bei CAPS Patienten mit niedriger Penetranz eine IL-1 Blockade in Erwägung gezogen werden (**Schuh**, Lohse et al. 2015).

Hinsichtlich APLAID waren die aberranten Signalwege bislang unbekannt. Basierend auf *in vitro* Daten wurde eine Beteiligung von IL-6, dem NLRP3 Inflammasom sowie TNF diskutiert (Chae, Park et al. 2015). Unsere eigenen Arbeiten zeigten allerdings überraschenderweise, dass die Erkrankung bei $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Tieren weitgehend unabhängig von diesen Faktoren ist. Im Gegensatz dazu fanden wir eine Schlüsselrolle für die verstärkte G-CSF Signalaktivierung sowohl bei APLAID Patienten als auch im Tiermodell (**Mulazzani**, Kong et al. 2023). Mechanistisch schlussfolgerten wir, dass der $PLC\gamma 2^{S707Y/+}$ Metabolit DAG die Transkription von G-CSF hochreguliert (Vellenga, van der Vinne et al. 1991). So zeigten *in vitro* Experimente mit dem DAG Analogon 1-Oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol (OAG) eine Induktion des G-CSF Transkripts in humanen Monozyten (Vellenga, van der Vinne et al. 1991). Diese Ergebnisse sind von hoher klinischer Relevanz und Studien zur Beurteilung des Therapieerfolges mittels anti-G-CSF Blockade bei APLAID Patienten sind geplant (Bunney and Katan 2023).

Unsere Erkenntnisse zu monogenetischen Erkrankungen helfen möglicherweise auch zu klären, wie dieselben Signalwege Entzündungsprozesse bei sporadischen, komplexen Krankheiten vermitteln und so zur Pathogenese beitragen (Heneka, Kummer et al. 2013, Inoue and Shinohara 2013, Yan, Fang et al. 2020).

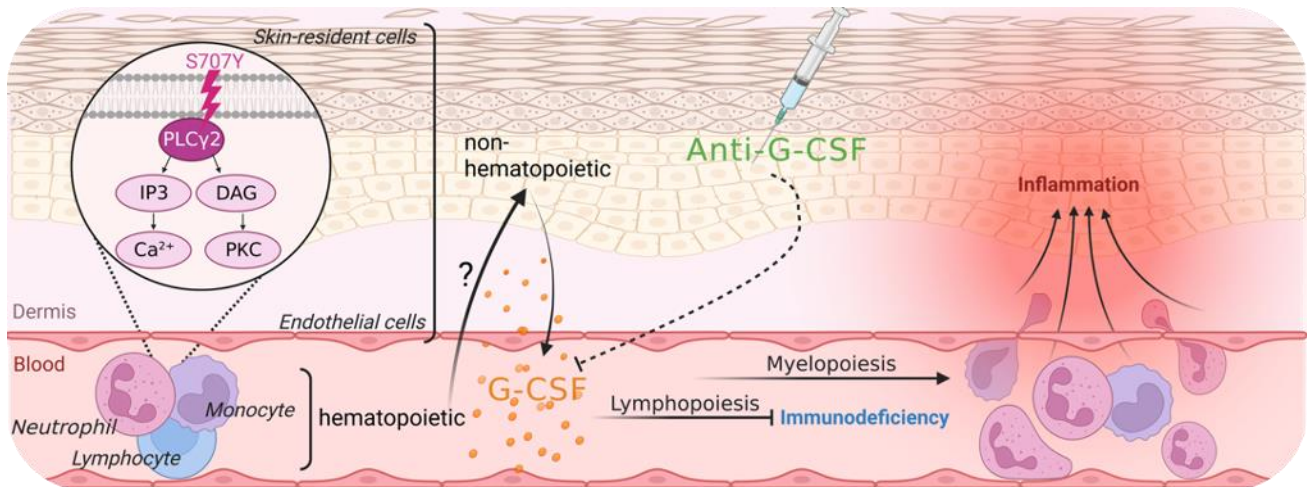


Abb. 24: Mechanistische Einblicke in APLAID (aus (Mulazzani, Kong et al. 2023)).

D. Zusammenfassung

Monogenetische autoinflammatorische Erkrankungen sind eine heterogene Klasse seltener Erkrankungen, die durch familiäre oder *de-novo* Mutationen in Genen verursacht werden, welche ihrerseits angeborenen Immunwege regulieren. Klinisch weisen autoinflammatorische Syndrome ein breites Spektrum an Symptomen auf, die sich bereits im Kindesalter mit wiederkehrenden Entzündungen an Haut, Gelenken, Muskeln, der Lunge, im Magen-Darm-Trakt und zentralen sowie peripheren Nervensystems manifestieren (McGonagle and McDermott 2006, Kastner, Aksentijevich et al. 2010). Die therapeutischen Optionen verfolgen das Ziel Krankheitsschübe zu vermeiden und durch eine langfristige Kontrolle der subklinischen Inflammation der Ausbildung eines sekundären Organschadens vorzubeugen. Dies setzt eine zielgerichtete und kontinuierliche, z.T. immunsuppressive Therapie voraus.

In der translationalen Forschungsarbeit der letzten zehn Jahre konnten wir Patienten mit Interferono- und Inflammasomopathien des Erwachsenenalters exzellent hinsichtlich ihres neurologischen Phänotyps charakterisieren (**Schuh**, Lohse et al. 2015) und damit ihre Diagnostik verbessern, potenzielle Biomarker aufzeigen, Einblicke in die Pathogenese gewinnen (**Schuh**, Gross et al. 2019) und neue therapeutische Optionen bei Patienten mit RVCL (**Schuh**, Ertl-Wagner et al. 2015) sowie CAPS Patienten mit einer konkomitanten MS finden (**Schuh**, Lohse et al. 2015). Weiters möchten wir mit unseren bisherigen Arbeiten auch die Aufmerksamkeit für diese Gruppe an Erkrankungen in der Neurologie schärfen. Nur dadurch lässt sich die Diagnose frühzeitig stellen und rasch eine zielgerichtete sowie kausale Therapie beginnen.

Auch die hier gezeigten Ergebnisse aus dem präklinischen Forschungsbereich beantworteten sowohl klinisch relevante sowie akademische Fragestellungen. Waren

monogene autoinflammatorische Erkrankungen bislang nur mit der Inflammasom Aktivierung, Typ-I Interferonen oder den NF- κ B-gesteuerten Zytokine TNF und IL-6 assoziiert (Davidson, Steiner et al. 2018, Harapas, Steiner et al. 2018, Steiner, Harapas et al. 2018), konnten wir bei APLAID in diesem Kontext ein bislang unbekanntes, krankheitsverursachendes Zytokin identifizieren: G-CSF (Mulazzani, Kong et al. 2023). In dem von uns neu generierten Mausmodell gelang es uns zudem eine bereits fortgeschrittene APLAID Krankheit mittels monoklonaler anti-G-CSF Antikörper Therapie bzw. allogener Knochenmarkstransplantation erfolgreich zu heilen (Mulazzani, Kong et al. 2023). Basierend auf diesen Daten postulieren wir, dass APLAID möglicherweise die erste einer Kategorie von G-CSF-vermittelten autoinflammatorischen Erkrankungen darstellt (Abb.25), welche zukünftig mit einer zielgerichteten und bereits verfügbaren Therapie behandelbar sind.

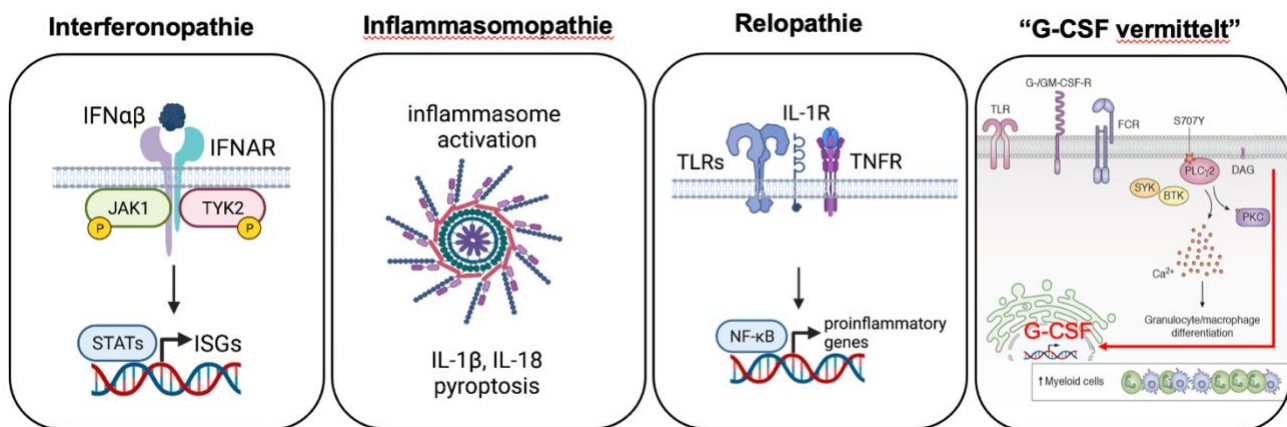


Abb. 25: Klassifikation autoinflammatorischer Syndrome unter Berücksichtigung der Erkenntnisse aus der vorgelegten Habilitationsschrift. Die Abbildung wurde mit Biorender.com (2023) erstellt.

E. Literatur

- Akira, S., S. Uematsu and O. Takeuchi (2006). "Pathogen recognition and innate immunity." Cell **124**(4): 783-801.
- Berridge, M. J. (1993). "Inositol trisphosphate and calcium signalling." Nature **361**(6410): 315-325.
- Bunney, T. D. and M. Katan (2023). "Targeting G-CSF to treat autoinflammation." Nat Immunol.
- Chae, J. J., Y. H. Park, C. Park, I. Y. Hwang, P. Hoffmann, J. H. Kehrl, I. Aksentijevich and D. L. Kastner (2015). "Connecting two pathways through Ca²⁺ signaling: NLRP3 inflammasome activation induced by a hypermorphic PLCG2 mutation." Arthritis Rheumatol **67**(2): 563-567.
- Cohen, I. R. (1973). "Cell-mediated autoimmunity: antigen reactive lymphocytes recruit specific effector lymphocytes." Nat New Biol **242**(115): 60-61.
- Compeyrot-Lacassagne, S., T. A. Tran, S. Guillaume-Czitrom, I. Marie and I. Kone-Paut (2009). "Brain multiple sclerosis-like lesions in a patient with Muckle-Wells syndrome." Rheumatology (Oxford) **48**(12): 1618-1619.
- Davidson, S., A. Steiner, C. R. Harapas and S. L. Masters (2018). "An Update on Autoinflammatory Diseases: Interferonopathies." Curr Rheumatol Rep **20**(7): 38.
- Feldmann, J., A. M. Prieur, P. Quartier, P. Berquin, S. Certain, E. Cortis, D. Teillac-Hamel, A. Fischer and G. de Saint Basile (2002). "Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes." Am J Hum Genet **71**(1): 198-203.
- Goldbach-Mansky, R. (2012). "Immunology in clinic review series; focus on autoinflammatory diseases: update on monogenic autoinflammatory diseases: the role of interleukin (IL)-1 and an emerging role for cytokines beyond IL-1." Clin Exp Immunol **167**(3): 391-404.
- Goldbach-Mansky, R. and D. L. Kastner (2009). "Autoinflammation: the prominent role of IL-1 in monogenic autoinflammatory diseases and implications for common illnesses." J Allergy Clin Immunol **124**(6): 1141-1149; quiz 1150-1141.
- Goutieres, F. (2005). "Aicardi-Goutieres syndrome." Brain Dev **27**(3): 201-206.
- Grimbacher, B., K. Warnatz, P. F. K. Yong, A. S. Korganow and H. H. Peter (2016). "The crossroads of autoimmunity and immunodeficiency: Lessons from polygenic traits and monogenic defects." J Allergy Clin Immunol **137**(1): 3-17.
- Harapas, C. R., A. Steiner, S. Davidson and S. L. Masters (2018). "An Update on Autoinflammatory Diseases: Inflammasomopathies." Curr Rheumatol Rep **20**(7): 40.

- Hedderich, D. M., N. Lummel, M. Deschauer, T. Kumpfel, E. Schuh, M. Patzig, C. Zimmer and T. Huber (2020). "Magnetic Resonance Imaging Characteristics of Retinal Vasculopathy with Cerebral Leukoencephalopathy and Systemic Manifestations." Clin Neuroradiol **30**(2): 229-236.
- Heneka, M. T., M. P. Kummer, A. Stutz, A. Delekate, S. Schwartz, A. Vieira-Saecker, A. Griep, D. Axt, A. Remus, T. C. Tzeng, E. Gelpi, A. Halle, M. Korte, E. Latz and D. T. Golenbock (2013). "NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice." Nature **493**(7434): 674-678.
- Hernandez, D., S. E. Egan, I. G. Yulug and E. M. Fisher (1994). "Mapping the gene that encodes phosphatidylinositol-specific phospholipase C-gamma 2 in the human and the mouse." Genomics **23**(2): 504-507.
- Inoue, M. and M. L. Shinohara (2013). "NLRP3 Inflammasome and MS/EAE." Autoimmune Dis **2013**: 859145.
- Jackson, J. T., E. Mulazzani, S. L. Nutt and S. L. Masters (2021). "The role of PLCgamma2 in immunological disorders, cancer, and neurodegeneration." J Biol Chem **297**(2): 100905.
- Janeway, C. A., Jr. and R. Medzhitov (2002). "Innate immune recognition." Annu Rev Immunol **20**: 197-216.
- Kalyoncu, U., A. Eker, K. K. Oguz, A. Kurne, I. Kalan, A. M. Topcuoglu, B. Anlar, Y. Bilginer, M. Arici, E. Yilmaz, S. Kiraz, M. Calguneri and R. Karabudak (2010). "Familial Mediterranean fever and central nervous system involvement: a case series." Medicine (Baltimore) **89**(2): 75-84.
- Kastner, D. L., I. Aksentijevich and R. Goldbach-Mansky (2010). "Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective." Cell **140**(6): 784-790.
- Kilcline, C., K. Shinkai, A. Bree, R. Modica, E. Von Scheven and I. J. Frieden (2005). "Neonatal-onset multisystem inflammatory disorder: the emerging role of pyrin genes in autoinflammatory diseases." Arch Dermatol **141**(2): 248-253.
- Kilic, H., S. Sahin, C. Duman, A. Adrovic, K. Barut, E. T. Turanli, S. R. Yildirim, O. Kizilkilic, O. Kasapcopur and S. Saltik (2019). "Spectrum of the neurologic manifestations in childhood-onset cryopyrin-associated periodic syndrome." Eur J Paediatr Neurol **23**(3): 466-472.
- Kitley, J. L., H. J. Lachmann, A. Pinto and L. Ginsberg (2010). "Neurologic manifestations of the cryopyrin-associated periodic syndrome." Neurology **74**(16): 1267-1270.
- Lee-Kirsch, M. A., M. Gong, D. Chowdhury, L. Senenko, K. Engel, Y. A. Lee, U. de Silva, S. L. Bailey, T. Witte, T. J. Vyse, J. Kere, C. Pfeiffer, S. Harvey, A. Wong, S. Koskenmies, O. Hummel, K. Rohde, R. E. Schmidt, A. F. Dominiczak, M. Gahr, T. Hollis, F. W. Perrino, J. Lieberman and N. Hubner (2007). "Mutations in the gene encoding the 3'-5' DNA

exonuclease TREX1 are associated with systemic lupus erythematosus." Nat Genet **39**(9): 1065-1067.

Martin-Nalda, A., C. Fortuny, L. Rey, T. D. Bunney, L. Alsina, A. Esteve-Sole, D. Bull, M. C. Anton, M. Basagana, F. Casals, A. Deya, M. Garcia-Prat, R. Gimeno, M. Juan, H. Martinez-Banaclocha, J. J. Martinez-Garcia, A. Mensa-Vilaro, R. Rabionet, N. Martin-Begue, F. Rudilla, J. Yague, X. Estivill, V. Garcia-Patos, R. M. Pujol, P. Soler-Palacin, M. Katan, P. Pelegrin, R. Colobran, A. Vicente and J. I. Arostegui (2020). "Severe Autoinflammatory Manifestations and Antibody Deficiency Due to Novel Hypermorphic PLCG2 Mutations." J Clin Immunol **40**(7): 987-1000.

Masters, S. L., A. Simon, I. Aksentijevich and D. L. Kastner (2009). "Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*)." Annu Rev Immunol **27**: 621-668.

Matzinger, P. (1994). "Tolerance, danger, and the extended family." Annu Rev Immunol **12**: 991-1045.

McDermott, M. F., I. Aksentijevich, J. Galon, E. M. McDermott, B. W. Ogunkolade, M. Centola, E. Mansfield, M. Gadina, L. Karenko, T. Pettersson, J. McCarthy, D. M. Frucht, M. Aringer, Y. Torosyan, A. M. Teppo, M. Wilson, H. M. Karaarslan, Y. Wan, I. Todd, G. Wood, R. Schlimgen, T. R. Kumarajeewa, S. M. Cooper, J. P. Vella, C. I. Amos, J. Mulley, K. A. Quane, M. G. Molloy, A. Ranki, R. J. Powell, G. A. Hitman, J. J. O'Shea and D. L. Kastner (1999). "Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes." Cell **97**(1): 133-144.

McGonagle, D. and M. F. McDermott (2006). "A proposed classification of the immunological diseases." PLoS Med **3**(8): e297.

Moran-Villasenor, E., M. Saez-de-Ocariz, A. Torrelo, J. I. Arostegui, M. A. Yamazaki-Nakashimada, M. A. Alcantara-Ortigoza, A. Gonzalez-Del-Angel, J. A. Velazquez-Aragon, G. Lopez-Herrera, L. Berron-Ruiz and M. T. Garcia-Romero (2019). "Expanding the clinical features of autoinflammation and phospholipase Cgamma2-associated antibody deficiency and immune dysregulation by description of a novel patient." J Eur Acad Dermatol Venereol **33**(12): 2334-2339.

Muckle, T. J. (1979). "The 'Muckle-Wells' syndrome." Br J Dermatol **100**(1): 87-92.

Mulazzani, E., K. Kong, J. I. Arostegui, A. P. Ng, N. Ranathunga, W. Abeysekera, A. L. Garnham, S. L. Ng, P. J. Baker, J. T. Jackson, J. D. Lich, M. L. Hibbs, I. P. Wicks, C. Louis and S. L. Masters (2023). "G-CSF drives autoinflammation in APLAID." Nat Immunol.

Neves, J. F., R. Doffinger, G. Barcena-Morales, C. Martins, O. Papapietro, V. Plagnol, J. Curtis, M. Martins, D. Kumararatne, A. I. Cordeiro, C. Neves, L. M. Borrego, M. Katan and S. Nejentsev (2018). "Novel PLCG2 Mutation in a Patient With APLAID and Cutis Laxa." Front Immunol **9**: 2863.

Nishizuka, Y. (1995). "Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses." *FASEB J* **9**(7): 484-496.

Novice, T., A. Kariminia, K. L. Del Bel, H. Lu, M. Sharma, C. J. Lim, J. Read, M. V. Lugt, M. C. Hannibal, D. O'Dwyer, M. Hosler, T. Scharnitz, J. M. Rizzo, J. Zacur, J. Priatel, S. Abdossamadi, A. Bohm, A. Junker, S. E. Turvey, K. R. Schultz and J. Rozmus (2020). "A Germline Mutation in the C2 Domain of PLCgamma2 Associated with Gain-of-Function Expands the Phenotype for PLCG2-Related Diseases." *J Clin Immunol* **40**(2): 267-276.

Ombrello, M. J. and D. L. Kastner (2011). "Autoinflammation in 2010: expanding clinical spectrum and broadening therapeutic horizons." *Nat Rev Rheumatol* **7**(2): 82-84.

Parker, T., S. Keddie, D. Kidd, T. Lane, M. Maviki, P. N. Hawkins, H. J. Lachmann and L. Ginsberg (2016). "Neurology of the cryopyrin-associated periodic fever syndrome." *Eur J Neurol* **23**(7): 1145-1151.

Perrino, F. W., H. Miller and K. A. Ealey (1994). "Identification of a 3'-->5'-exonuclease that removes cytosine arabinoside monophosphate from 3' termini of DNA." *J Biol Chem* **269**(23): 16357-16363.

Quinquenel, A., L. M. Fornecker, R. Letestu, L. Ysebaert, C. Fleury, G. Lazarian, M. S. Dilhuydy, D. Nollet, R. Guieze, P. Feugier, D. Roos-Weil, L. Willems, A. S. Michallet, A. Delmer, K. Hormigos, V. Levy, F. Cymbalista, F. Baran-Marszak and C. L. L. G. French Innovative Leukemia Organization (2019). "Prevalence of BTK and PLCG2 mutations in a real-life CLL cohort still on ibrutinib after 3 years: a FILO group study." *Blood* **134**(7): 641-644.

Rice, G., T. Patrick, R. Parmar, C. F. Taylor, A. Aeby, J. Aicardi, R. Artuch, S. A. Montalto, C. A. Bacino, B. Barroso, P. Baxter, W. S. Benko, C. Bergmann, E. Bertini, R. Biancheri, E. M. Blair, N. Blau, D. T. Bonthron, T. Briggs, L. A. Brueton, H. G. Brunner, C. J. Burke, I. M. Carr, D. R. Carvalho, K. E. Chandler, H. J. Christen, P. C. Corry, F. M. Cowan, H. Cox, S. D'Arrigo, J. Dean, C. De Laet, C. De Praeter, C. Dery, C. D. Ferrie, K. Flintoff, S. G. Frints, A. Garcia-Cazorla, B. Gener, C. Goizet, F. Goutieres, A. J. Green, A. Guet, B. C. Hamel, B. E. Hayward, A. Heiberg, R. C. Hennekam, M. Husson, A. P. Jackson, R. Jayatunga, Y. H. Jiang, S. G. Kant, A. Kao, M. D. King, H. M. Kingston, J. Klepper, M. S. van der Knaap, A. J. Kornberg, D. Kotzot, W. Kratzer, D. Lacombe, L. Lagae, P. G. Landrieu, G. Lanzi, A. Leitch, M. J. Lim, J. H. Livingston, C. M. Lourenco, E. G. Lyall, S. A. Lynch, M. J. Lyons, D. Marom, J. P. McClure, R. McWilliam, S. B. Melancon, L. D. Mewasingh, M. L. Moutard, K. K. Nischal, J. R. Ostergaard, J. Prendiville, M. Rasmussen, R. C. Rogers, D. Roland, E. M. Rosser, K. Rostasy, A. Roubertie, A. Sanchis, R. Schiffmann, S. Scholl-Burgi, S. Seal, S. A. Shalev, C. S. Corcoles, G. P. Sinha, D. Soler, R. Spiegel, J. B. Stephenson, U. Tacke, T. Y. Tan, M. Till, J. L. Tolmie, P. Tomlin, F. Vagnarelli, E. M. Valente, R. N. Van Coster, N. Van der Aa, A. Vanderver, J. S. Vles, T. Voit, E. Wassmer, B. Weschke, M. L. Whiteford, M. A. Willemsen, A. Zankl, S. M. Zuberi, S. Orcesi, E. Fazzi, P. Lebon and Y. J. Crow (2007). "Clinical and molecular phenotype of Aicardi-Goutieres syndrome." *Am J Hum Genet* **81**(4): 713-725.

Richards, A., A. M. van den Maagdenberg, J. C. Jen, D. Kavanagh, P. Bertram, D. Spitzer, M. K. Liszewski, M. L. Barilla-Labarca, G. M. Terwindt, Y. Kasai, M. McLellan, M. G. Grand, K. R. Vanmolkot, B. de Vries, J. Wan, M. J. Kane, H. Mamsa, R. Schafer, A. H. Stam, J. Haan, P. T. de Jong, C. W. Storimans, M. J. van Schooneveld, J. A. Oosterhuis, A. Gschwendter, M. Dichgans, K. E. Kotschet, S. Hodgkinson, T. A. Hardy, M. B. Delatycki, R. A. Hajj-Ali, P. H. Kothari, S. F. Nelson, R. R. Frants, R. W. Baloh, M. D. Ferrari and J. P. Atkinson (2007). "C-terminal truncations in human 3'-5' DNA exonuclease TREX1 cause autosomal dominant retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy." Nat Genet **39**(9): 1068-1070.

Schuh, E., B. Ertl-Wagner, P. Lohse, W. Wolf, J. F. Mann, M. A. Lee-Kirsch, R. Hohlfeld and T. Kumpfel (2015). "Multiple sclerosis-like lesions and type I interferon signature in a patient with RVCL." Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm **2**(1): e55.

Schuh, E., C. J. Gross, D. Wagner, M. Schluter, O. Gross and T. Kumpfel (2019). "MCC950 blocks enhanced interleukin-1beta production in patients with NLRP3 low penetrance variants." Clin Immunol **203**: 45-52.

Schuh, E., P. Lohse, B. Ertl-Wagner, M. Witt, M. Krumbholz, M. Frankenberger, L. A. Gerdes, R. Hohlfeld and T. Kumpfel (2015). "Expanding spectrum of neurologic manifestations in patients with NLRP3 low-penetrance mutations." Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm **2**(4): e109.

Stam, A. H., P. H. Kothari, A. Shaikh, A. Gschwendter, J. C. Jen, S. Hodgkinson, T. A. Hardy, M. Hayes, P. A. Kempster, K. E. Kotschet, I. M. Bajema, S. G. van Duinen, M. L. C. Maat-Schieman, P. de Jong, M. D. de Smet, D. de Wolff-Rouendaal, G. Dijkman, N. Pelzer, G. R. Kolar, R. E. Schmidt, J. Lacey, D. Joseph, D. R. Fintak, M. G. Grand, E. M. Brunt, H. Liapis, R. A. Hajj-Ali, M. C. Kruit, M. A. van Buchem, M. Dichgans, R. R. Frants, A. van den Maagdenberg, J. Haan, R. W. Baloh, J. P. Atkinson, G. M. Terwindt and M. D. Ferrari (2016). "Retinal vasculopathy with cerebral leukoencephalopathy and systemic manifestations." Brain **139**(11): 2909-2922.

Steiner, A., C. R. Harapas, S. L. Masters and S. Davidson (2018). "An Update on Autoinflammatory Diseases: Relopathies." Curr Rheumatol Rep **20**(7): 39.

Stojanov, S. and D. L. Kastner (2005). "Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment." Curr Opin Rheumatol **17**(5): 586-599.

van der Lee, S. J., O. J. Conway, I. Jansen, M. M. Carrasquillo, L. Kleineidam, E. van den Akker, I. Hernandez, K. R. van Eijk, N. Stringa, J. A. Chen, A. Zettergren, T. F. M. Andlauer, M. Diez-Fairen, J. Simon-Sanchez, A. Lleo, H. Zetterberg, M. Nygaard, C. Blauwendraat, J. E. Savage, J. Mengel-From, S. Moreno-Grau, M. Wagner, J. Fortea, M. J. Keogh, K. Blennow, I. Skoog, M. A. Friese, O. Pletnikova, M. Zulaica, C. Lage, I. de Rojas, S. Riedel-Heller, I. Illan-Gala, W. Wei, B. Jeune, A. Orellana, F. Then Bergh, X. Wang, M. Hulsman, N. Beker, N. Tesi, C. M. Morris, B. Indakoetxea, L. E. Collij, M. Scherer, E. Morenas-Rodriguez, J. W. Ironside, B. N. M. van Berckel, D. Alcolea, H. Wiendl, S. L. Strickland, P. Pastor, E. Rodriguez Rodriguez, E. Desgesco, Eadb, I. Ifgc, Ipdgc, F. T. D. RiMod, B.

Netherlands Brain, B. F. Boeve, R. C. Petersen, T. J. Ferman, J. A. van Gerpen, M. J. T. Reinders, R. J. Uitti, L. Tarraga, W. Maier, O. Dols-Icardo, A. Kawalia, M. C. Dalmaso, M. Boada, U. K. Zettl, N. M. van Schoor, M. Beekman, M. Allen, E. Masliah, A. L. de Munain, A. Pantelyat, Z. K. Wszolek, O. A. Ross, D. W. Dickson, N. R. Graff-Radford, D. Knopman, R. Rademakers, A. W. Lemstra, Y. A. L. Pijnenburg, P. Scheltens, T. Gasser, P. F. Chinnery, B. Hemmer, M. A. Huisman, J. Troncoso, F. Moreno, E. A. Nohr, T. I. A. Sorensen, P. Heutink, P. Sanchez-Juan, D. Posthuma, G. S. Group, J. Clarimon, K. Christensen, N. Ertekin-Taner, S. W. Scholz, A. Ramirez, A. Ruiz, E. Slagboom, W. M. van der Flier and H. Holstege (2019). "A nonsynonymous mutation in PLCG2 reduces the risk of Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and frontotemporal dementia, and increases the likelihood of longevity." Acta Neuropathol **138**(2): 237-250.

Vellenga, E., B. van der Vinne, J. T. De Wolf and M. R. Halie (1991). "Simultaneous expression and regulation of G-CSF and IL-6 mRNA in adherent human monocytes and fibroblasts." Br J Haematol **78**(1): 14-18.

Yan, Y. Q., Y. Fang, R. Zheng, J. L. Pu and B. R. Zhang (2020). "NLRP3 Inflammasomes in Parkinson's disease and their Regulation by Parkin." Neuroscience **446**: 323-334.

Zhou, Q., G. S. Lee, J. Brady, S. Datta, M. Katan, A. Sheikh, M. S. Martins, T. D. Bunney, B. H. Santich, S. Moir, D. B. Kuhns, D. A. Long Priel, A. Ombrello, D. Stone, M. J. Ombrello, J. Khan, J. D. Milner, D. L. Kastner and I. Aksentijevich (2012). "A hypermorphic missense mutation in PLCG2, encoding phospholipase Cgamma2, causes a dominantly inherited autoinflammatory disease with immunodeficiency." Am J Hum Genet **91**(4): 713-720.

F. Lebenslauf

Curriculum Vitae

Ausbildung

2004	Matura (mit ausgezeichnetem Erfolg abgeschlossen) am Gymnasium der Redemptoristen, Katzelsdorf, NÖ
2004-2010	Medizinische Universität Wien (MUW) mit Auslandsaufenthalten in Brasilien, Indien, Tansania und Ägypten
2008-2010	Diplomarbeit Dr.med.univ. (Note: 1.0), MUW Betreuer: Prof. Fritz Zimprich
01/2013-12/2016	Doktorarbeit , PhD (mit Auszeichnung), MUW/Neuroscience PhD program, Betreuer: Prof. Edgar Meinl und Monika Bradl,

Beruflicher Werdegang

11/2010-10/2018	Assistenzärztin sowie "Clinician Scientist" am Institut für klinische Neuroimmunologie (Prof. Hohlfeld/Kerschensteiner), der Neurologischen Klinik (Prof. Dieterich) an der Abteilung für Neuroradiologie (Prof. Brückmann)
01/2013-12/2016	PhD Studentin am Institut für klinische Neuroimmunologie, München und dem Hirnforschungszentrum, Wien. Betreuer: Prof. Edgar Meinl and Prof. Monika Bradl.
01/2017-05/2017	Gastwissenschaftlerin am Klinikum Rechts der Isar- Institute für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Betreuer: Prof. Olaf Groß, in co-operation mit Prof. Thomas Korn (Experimental Neuroimmunology Unit, Klinikum Rechts der Isar).
11/2018-10/2019	Fachärztin für Neurologie am Institut für klinische Neuroimmunologie, München (Prof. Hohlfeld/Kerschensteiner)
11/2019-04/2023	Postdotorandin im Masters' Laboratory Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne; Betreuer: Prof. Seth Masters
Seit 01/2024	Projektleiter Universitätsklinik für Neurologie Wien

Förderungen, Stipendien und Preise

2012-2015	Stipendium zur Kongressteilnahme an ECTRIMS and EFNS
2015	Synergy Reisestipendium
2016	Synergy-Clinician Scientist Programm Modul I:60.000€
2016	Friedrich-Baur Stiftung: 7.500 €
2017	Dissertationspreis der Medizinische Universität Wien
2017	Kompetenz Netzwerk Multiple Sklerose (KKNMS) scholarship
2019-2023	Postdotorandenstipendium der Deutsche Forschungsgesellschaft
2022	Craven Shearer Award \$15.000 AUD
2023	ESPRIT-Fellowship des FWF

G. Publikationsliste

Originalarbeiten

- Mulazzani, E.,** L. Bohm, T. Christmann, M. Krumbholz, T. Kumpfelfel and J. Havla. Optical coherence tomography assessment of disease activity in cryopyrin-associated periodic syndrome. *Eur J Neurol* (2024). DOI: [10.1111/ene.16301](https://doi.org/10.1111/ene.16301)
- Mulazzani, E.,** Kong, K., Aróstegui, J.I. et al. G-CSF drives autoinflammation in APLAID. *Nat Immunol* (2023). <https://doi.org/10.1038/s41590-023-01473-6>
- Mulazzani, E.,** D. Wagner, J. Havla, M. Schluter, I. Meinel, L. A. Gerdes, and T. Kumpfelfel. "Neurological Phenotypes in Patients with Nlrp3-, Mefv-, and Tnfrsf1a Low-Penetrance Variants." *J Neuroinflammation* 17, no. 1 (Jun 20 2020): 196. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01867-5>.
- Mulazzani, E.,** N. Zolyniak, E. Noe, M. Mulazzani, S. C. Azad, T. Kumpfelfel, and E. Kraft. "Clinical and Psychological Phenomenology of Pain in Autoinflammatory Diseases." *BMC Rheumatol* 4, no. 1 (Dec 18 2020): 71. <https://doi.org/10.1186/s41927-020-00168-x>.
- Schuh, E.,** C. J. Gross, D. Wagner, M. Schluter, O. Gross, and T. Kumpfelfel. "Mcc950 Blocks Enhanced Interleukin-1beta Production in Patients with Nlrp3 Low Penetrance Variants." *Clin Immunol* 203 (Jun 2019): 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2019.04.004>.
- Schuh, E.,** A. Musumeci, F. S. Thaler, S. Laurent, J. W. Ellwart, R. Hohlfeld, A. Krug, and E. Meinel. "Human Plasmacytoid Dendritic Cells Display and Shed B Cell Maturation Antigen Upon Tlr Engagement." *J Immunol* 198, no. 8 (Apr 15 2017): 3081-88. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601746>.
- Schuh, E.,** K. Berer, M. Mulazzani, K. Feil, I. Meinel, H. Lahm, M. Krane, et al. "Features of Human Cd3+ Cd20+ T Cells." *J Immunol* 197, no. 4 (Aug 15 2016): 1111-7. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600089>.
- Schuh, E.,** P. Lohse, B. Ertl-Wagner, M. Witt, M. Krumbholz, M. Frankenberger, L. A. Gerdes, R. Hohlfeld, and T. Kumpfelfel. "Expanding Spectrum of Neurologic Manifestations in Patients with Nlrp3 Low-Penetrance Mutations." *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2, no. 4 (Aug 2015): e109. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000109>.
- Schonecker, S., M. Brendel, C. Palleis, L. Beyer, G. U. Hoglinger, **E. Schuh**, B. S. Rauchmann, et al. "Pet Imaging of Astroglialosis and Tau Facilitates Diagnosis of Parkinsonian Syndromes." *Front Aging Neurosci* 11 (2019): 249. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00249>.

- Mulazzani, M., M. Huber, S. Borchard, S. Langer, B. Angele, **E. Schuh**, E. Meinl, *et al.* "April and Baff: Novel Biomarkers for Central Nervous System Lymphoma." *J Hematol Oncol* 12, no. 1 (Oct 15 2019): 102. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0796-4>.
- Thaler, F. S., A. L. Thaller, M. Biljecki, **E. Schuh**, S. Winklmeier, C. F. Mahler, R. Gerhards, *et al.* "Abundant Glutamic Acid Decarboxylase (Gad)-Reactive B Cells in Gad-Antibody-Associated Neurological Disorders." *Ann Neurol* 85, no. 3 (Mar 2019): 448-54. <https://doi.org/10.1002/ana.25414>.
- Hedderich, D. M., N. Lummel, M. Deschauer, T. Kumpfel, **E. Schuh**, M. Patzig, C. Zimmer, and T. Huber. "Magnetic Resonance Imaging Characteristics of Retinal Vasculopathy with Cerebral Leukoencephalopathy and Systemic Manifestations." *Clin Neuroradiol* 30, no. 2 (Jun 2020): 229-36. <https://doi.org/10.1007/s00062-018-0755-4>.
- Spadaro, M., S. Winklmeier, E. Beltran, C. Macrini, R. Hoftberger, **E. Schuh**, F. S. Thaler, *et al.* "Pathogenicity of Human Antibodies against Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein." *Ann Neurol* 84, no. 2 (Aug 2018): 315-28. <https://doi.org/10.1002/ana.25291>.
- Havla, J., T. Kumpfel, R. Schinner, M. Spadaro, **E. Schuh**, E. Meinl, R. Hohlfeld, and O. Outteryck. "Myelin-Oligodendrocyte-Glycoprotein (Mog) Autoantibodies as Potential Markers of Severe Optic Neuritis and Subclinical Retinal Axonal Degeneration." *J Neurol* 264, no. 1 (Jan 2017): 139-51. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8333-7>.
- Spadaro, M., L. A. Gerdes, M. Krumbholz, B. Ertl-Wagner, F. S. Thaler, **E. Schuh**, I. Metz, *et al.* "Autoantibodies to Mog in a Distinct Subgroup of Adult Multiple Sclerosis." *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 3, no. 5 (Oct 2016): e257. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000257>.
- Laurent, S. A., F. S. Hoffmann, P. H. Kuhn, Q. Cheng, Y. Chu, M. Schmidt-Supprian, S. M. Hauck, *et al.* "Gamma-Secretase Directly Sheds the Survival Receptor Bcma from Plasma Cells." *Nat Commun* 6 (Jun 11 2015): 7333. <https://doi.org/10.1038/ncomms8333>.
- Schlachter, K., U. Gruber-Sedlmayr, E. Stogmann, M. Lausecker, C. Hotzy, J. Balzar, E. Schuh, *et al.* "A Splice Site Variant in the Sodium Channel Gene Scn1a Confers Risk of Febrile Seizures." *Neurology* 72, no. 11 (Mar 17 2009): 974-8. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000344401.02915.00>.
- Pirker, S., E. Gasser, T. Czech, C. Baumgartner, **E. Schuh**, M. Feucht, K. Novak, F. Zimprich, and G. Sperk. "Dynamic up-Regulation of Prodynorphin Transcription in Temporal Lobe Epilepsy." *Hippocampus* 19, no. 11 (Nov 2009): 1051-4. <https://doi.org/10.1002/hipo.20633>.

Kasuistiken

Hohne, C., **E. Schuh**, T. Kumpf, and A. Straube. "Cryopyrin-Associated Periodic Fever Syndrome Manifesting as Tolosa-Hunt Syndrome." *Cephalalgia* 36, no. 14 (Dec 2016): 1392-96. <https://doi.org/10.1177/0333102416629239>.

Schuh, E., B. Ertl-Wagner, P. Lohse, W. Wolf, J. F. Mann, M. A. Lee-Kirsch, R. Hohlfeld, and T. Kumpf. "Multiple Sclerosis-Like Lesions and Type I Interferon Signature in a Patient with Rvcl." *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2, no. 1 (Feb 2015): e55. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000055>.

Übersichtsartikel

Jackson, J. T.* , **E. Mulazzani***, S. L. Nutt, and S. L. Masters. "The Role of Plcgamma2 in Immunological Disorders, Cancer, and Neurodegeneration." *J Biol Chem* 297, no. 2 (Aug 2021): 100905. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100905>.

*contributed equally

H. Danksagung

Diese Habilitationsarbeit wäre ohne die Unterstützung von so vielen inspirierenden Menschen nicht möglich gewesen, und ich bin jedem Einzelnen von ihnen dankbar, dass sie mich auf dieser Reise begleitet haben.

Mein erster Dank gilt den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für klinische Neuroimmunologie, allen voran Prof. Reinhard Hohlfeld, Prof. Tania Kümpfel und Prof. Martin Kerschensteiner für ihre unglaubliche Expertise auf dem Gebiet der translationalen Neuroimmunologie und ihrer Forschungsbegeisterung. Ebenso bin ich dankbar für ihren Fokus, ihre kritische Analyse, ihre Geduld und ihren Humor in herausfordernden Zeiten. Das Arbeitsumfeld war stets sehr produktiv und familiär.

Ein besonderer Dank gilt Prof. Seth Masters und seinem gesamten Team. Prof. Seth Masters ist ein beeindruckender Wissenschaftler und herausragender Mentor. Ich bin ausgesprochen dankbar für all die intellektuellen und experimentellen Freiheiten in der Projektausführung und das Vertrauen in mich sowie seine unerschütterliche (australische) Gelassenheit. Von Prof. Seth Masters konnte ich nicht nur beruflich, sondern auch persönlich viel lernen.

Ich möchte auch all den großartigen und äußerst engagierten Mitarbeitern des Walter und Eliza Instituts of Medical Research (WEHI) danken-begonnen bei Rosie Falconi, die mich jeden Morgen mit einem Lächeln empfangen hat, bis zu Direktor Prof. Doug Hilton, dessen Institutsleitung und Mitarbeiterführung ihresgleichen sucht. Ich habe jeden Tag, an dem ich Teil dieser wunderbaren „WEHI community“ war geliebt und als großes Privileg angesehen. Mein Dank gilt auch allen hier beschriebenen Patienten und ihren Familien für Ihre Hilfe und Teilnahme an unseren Studien.

Der größte Dank gilt meiner Familie für ihre beständige Liebe, stetige Unterstützung, ihr nie enden wollendes Verständnis und ihre hartnäckige Ausdauer. In einem Vortrag habe ich mal aufgeschnappt, dass der größte Prädiktor für eine erfolgreiche akademische Karriere ein unterstützender Partner ist. Matthias, amore di mio, es gibt keine Worte, um zu beschreiben, wie dankbar ich dir bin, dich und unsere drei wunderbaren Töchter Carlotta, Clementine und Celeste in meinem Leben zu haben. Danke, dass ihr immer für mich da seid, mich nach allen Kräften unterstützt, an mich glaubt und mir somit eine akademische Karriere überhaupt erst ermöglicht habt. Danke auch, geliebte Carlotta, dass du so stolz auf mich bist und jedem, den du triffst erzählst, dass Mama und Papa „real-life doctors/scientists“ sind. Ich liebe euch unendlich!