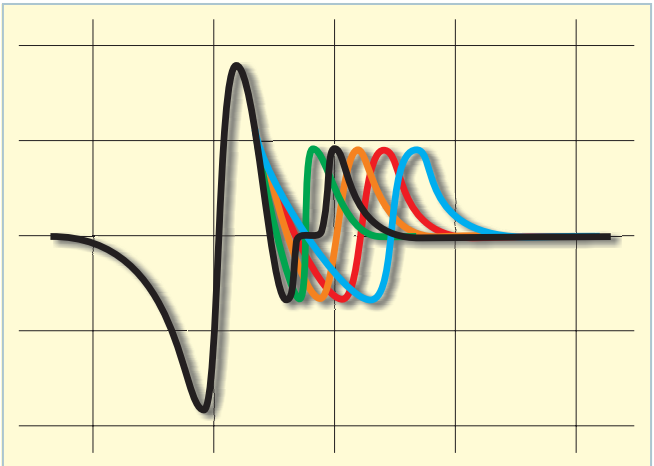


MuSK- Autoantikörper

Marker bei seronegativer Myasthenie

Prof. Dr. med. H.-P. Seelig



Labor Prof. Dr. med. H.-P. Seelig und Kollegen

Kriegsstraße 99 · 76133 Karlsruhe
Telefon: 07 21 850000 · www.laborseelig.de

© 2006

Bei etwa 20 % der Patienten mit generalisierter Myasthenia gravis (MG) lassen sich selbst mit empfindlichen Radioimmunoassays keine der für das Krankheitsbild charakteristischen Autoantikörper gegen Acetylcholinrezeptoren (anti-AChR) nachweisen. Man spricht in diesen Fällen von einer **seronegativen Myasthenia gravis (SNMG)**. Klinische Beobachtungen und experimentelle Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, dass auch bei Patienten mit **SNMG** Autoantikörper auftreten, die möglicherweise an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sind. Hinweise hierfür sind

- ▶ die deutliche Besserung der myasthenischen Symptome nach Plasmapheresen,
- ▶ die Transmission der **SNMG** von Mutter auf Kind (neonatale Myasthenie),
- ▶ die Entwicklung neuromuskulärer Transmissionsdefekte bei Mäusen nach Transfer von Seren oder Immunglobulinfraktionen von **SNMG**-Patienten,
- ▶ die Induktion von Funktionsstörungen an Acetylcholinrezeptoren (AChR) in kultivierten Muskelzellen durch Seren von **SNMG**-Patienten und die Reaktion von Antikörpern mit Membranantigenen solcher Zellen,
- ▶ die Identifizierung von Antikörpern gegen die in der neuromuskulären Endplatte gelegene muskelspezifische Rezeptor-Tyrosinkinase (MuSK).

Die erstmals im Jahre 2001 beschriebenen Autoantikörper gegen die muskelspezifische Rezeptor-Tyrosinkinase (anti-MuSK) finden sich bei 30-40 % der Patienten mit **SNMG**. Sie scheinen bevorzugt bei weiblichen Patienten mit vorwiegendem Befall der extraokulären, bulbären, nuchalen oder respiratorischen Muskeln aufzutreten und daher eine klinische und möglicherweise auch pathogenetische Variante der **SNMG** zu kennzeichnen. Sie finden sich nur selten (vgl. Tabelle 1) bei anti-AChR-positiven (seropositiven) Myastheniepatienten. In kultivierten Myotubuli hemmen anti-MuSK die durch Agrin induzierbare Clusterbildung von Acetylcholinrezeptoren. Ob sie auch bei der Pathogenese der **SNMG** eine Rolle spielen, ist noch unklar. Als mögliche Marker einer Unterform der **SNMG** sind sie jedoch für die Diagnostik bei Myastheniepatienten von Bedeutung.

Rezeptortyrosinkinase (MuSK)

Die skelettmuskelspezifische Rezeptor-Tyrosinkinase (MuSK) ist ein integraler Bestandteil des in der motorischen Endplatte gelegenen Agrin-Rezeptors (Abb. 1). Ihre Aktivierung durch Agrin führt über einen komplexen Signaltransduktionsweg zur Clusterbildung von Acetylcholinrezeptoren (AChR) und anderen Proteinen (z.B.

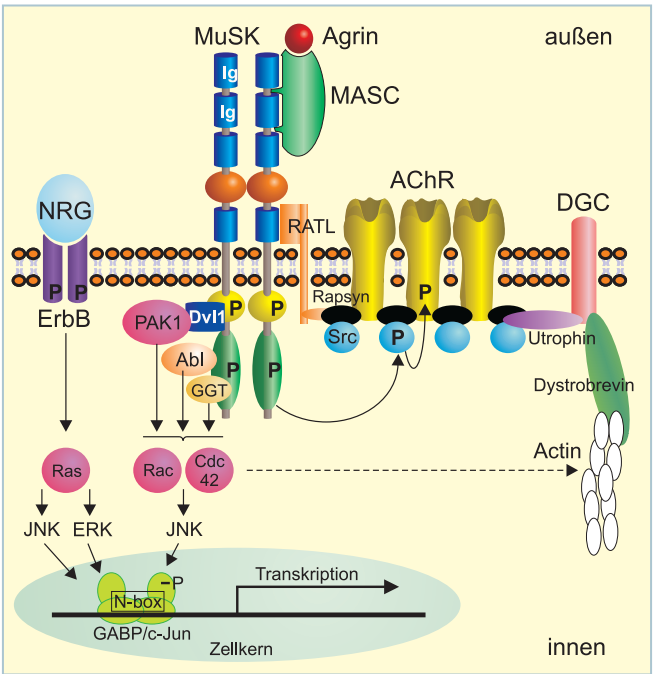


Abbildung 1

MuSK-Agrin-induzierte Signalwege

MuSK besteht aus vier Immunglobulin-ähnlichen Domänen (blau; Ig), einer cysteinreichen Region (orange), der Juxtamembran- (gelb) und Tyrosinkinase-Domäne (grün). **Agrin** aktiviert MuSK unter Vermittlung von **MASC** (myotube-associated specificity component). MuSK dimerisiert, die Juxtamembran- und Kinase-Domänen werden phosphoryliert (P). Dies führt zur Aktivierung der an **Rapsyn** gebundenen **Src**-Kinase. Die Phosphorylierung der Acetylcholinrezeptoren (**AChR**) durch die **Src**-Kinase und die Bindung an Rapsyn induzieren AChR-Cluster. Die Rapsyn/AChR-Aggregate sind über **RATL** (Rapsyn associated transmembrane linker) an MuSK gebunden. Zur Stabilisierung der AChR-Cluster dienen Dystroglykankomplex (**DGC**) und Actinfilamente. Die Aktivierung von MuSK stimuliert die Actin-Polymerisation und die Transkription synaptischer Gene. In Antwort auf Agrin werden **PAK1** (p21-aktivierte Kinase, über Dvl1 an MuSK gebunden), **GGT** (Geranylgeranyltransferase) und **Abl** (Abelson Tyrosinkinase) und in deren Gefolge die GTPasen **Rac** und **Cdc42** aktiviert. Rac und Cdc42 sind an der Actin-Reorganisation, der Bildung von AChR-Clustern und durch Vermittlung von **JNK** (c-jun NH2-terminal kinase) an der Gentranskription in subsynaptischen Kernen beteiligt. Die Genexpression erfolgt auch nach Aktivierung der **ErbB**-Rezeptoren (epidermal growth factor) durch Neuregulin (**NRG**) über den **Ras**-Signalweg. Beide Wege führen zur Phosphorylierung der Transkriptionsfaktoren **GABP/c-Jun**, welche an die **N-Box** synaptischer Gene binden. Der Agrin-MuSK-Rezeptorkomplex scheint auch die Clusterbildung der ErbB-Rezeptoren zu beeinflussen.

Rapsyn) an den Synapsen und zur verstärkten Transkription ihrer kodierenden Gene in den benachbarten Zellkernen. Wird die funktionelle Aktivität von MuSK im Tierexperiment ausgeschaltet (RNAi, knock-out-Mäuse), verlieren die Muskelzellen die Fähigkeit zur Differenzierung der postsynaptischen Membranen. Die Ausbildung der AChR-Cluster unterbleibt, die Tiere versterben noch in der Perinatalperiode an ihrer ausgeprägten Muskelschwäche.

MuSK-Autoantikörper (anti-MuSK)

MuSK-Autoantikörper finden sich bei 30-40 % der kaukasischen oder afroamerikanischen, seltener (4 %) bei chinesischen Patienten mit **SNMG** (Tab. 1). Korrelationen zwischen der Serumkonzentration der Antikörper und der Schwere der klinischen Symptome wurden bisher nicht beobachtet. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, kommen anti-MuSK bei der okulären **SNMG** nicht vor. Auch bei der seropositiven, d.h. der mit anti-AChR einhergehenden Myasthenia gravis, werden anti-MuSK in der Regel nicht angetroffen. Bei Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndrom, anderen Neuropathien, bei systemischen Autoimmunerkrankungen und Blutspendern ließen sich die Antikörper ebenfalls nicht nachweisen.

Anti-MuSK sind hochaffine Antikörper ($K_d \sim 100$ pmol/L) der Immunglobulinklassen IgG_4 (70 %) und IgG_1 (30 %). Sie richten sich vorwiegend gegen die beiden distalen Ig-ähnlichen Domänen (Abb. 1). An Mäusemyoblasten fördern sie einerseits die Entstehung von AChR-Clustern, möglicherweise nach Dimerisierung und Aktivierung von MuSK durch die gebundenen Antikörper, andererseits hemmen sie deutlich die durch Agrin induzierbare Clusterbildung der AChR.

Denkbar wäre, dass MuSK-Autoantikörper auch beim Menschen die Funktion und Struktur motorischer Endplatten komplementvermittelt beeinträchtigen, da der kleinere Teil der zirkulierenden anti-MuSK der komplementfixierenden Subklasse IgG_1 angehört. Die wenigen vorliegenden Untersuchungen stützen eine solche Annahme aber nicht. Es fanden sich nur minimale Immunglobulinablagerungen an einigen motorischen Endplatten eines anti-MuSK-positiven Patienten und bei zwei von acht Patienten wurden nur geringe Komplementniederschläge (C3) an den Endplatten gesehen. Die Dichte der AChR in den motorischen Endplatten war, im Vergleich zu Gesunden, ebenfalls nicht signifikant verändert. Strukturelle Schädigungen der motorischen Endplatten ließen sich licht- und elektronenoptisch nicht nachweisen. Unbekannt ist auch, ob sich experimentell neuromuskuläre Transmissionsdefekte und myasthenische Symptome nach Immunisierung mit MuSK auslösen lassen.

Möglicherweise sind andere Autoantikörper gegen prä- oder postsynaptische Funktionsproteine an der Pathogenese der **SNMG** beteiligt. In anti-MuSK-negativen und -positiven Seren von **SNMG**-Patienten wurden Faktoren nachgewiesen, die eine reversible Funktionseinschränkung zellulärer AChR hervorrufen. Einer dieser noch nicht näher charakterisierten Faktoren, ließ sich

Tabelle 1

Epidemiologie anti-MuSK-positiver (anti-MuSK+) Patienten mit seronegativer (SNMG) und seropositiver Myasthenie (SPMG)

Autoren	SNMG		SPMG	
	Gesamt	anti-MuSK+	Gesamt	anti-MuSK+
HOCH (2001)	24	17 (71 %)	19	0 (0 %)
McCONVILLE (2003)	66 (g) 18 (o)	27 (41 %) 0 (0 %)	105	0 (0 %)
SANDERS (2003)	38	12 (32 %)		
LAURIOLA (2004)	32	12 (38 %)		
LAVRNIC (2004)	55	17 (31 %)		
MATTHEWS (2004)	33	8 (24 %)	53	0 (0 %)
OHTA (2004)	17	7 (41 %)	95 Thy- 38 Thy+	10 (11%) 4 (11%)
YEH (2004) *1	26	1 (4 %)		
ZHOU (2004)	25 (g) 13 (o)	10 (40 %) 0 (0 %)		
NEMOTO (2005)	13	4 (31 %)		
SHIRAISHI (2005)	30	10 (33 %)		
STRICKLER (2005)	44	20 (45 %)		
SCUDERI (2002)	21 *2	13 (62 %)	26	1 (4 %)
EVOLI (2003)	78 *2	37 (47 %)	36	0 (0 %)

Thy = Thymom; (g) = generalisierte, (o) = okuläre Myasthenie
 *1 Taiwan
 *2 Westernblot mit Membranextrakten von TE671-Zellen

zusammen mit der IgM-Fraktion aus einem anti-MuSK-negativen Serum isolieren und desensibilisierte die AChR in Rezeptor-exprimierenden Muskelzelllinien (TE671/CN21) möglicherweise durch Bindung an eine allosterische Rezeptorregion.

Anti-MuSK-positive SNMG

Anti-MuSK-positive Patienten scheinen eine eigene Untergruppe der **SNMG** mit drei verschiedenen Manifestationsformen zu bilden. Eine Form zeigt eine vorwiegend okuläre, vereinzelt eine ausschließlich okuläre Symptomatik. Bei der zweiten Form sind vorwiegend die bulbären, nuchealen und respiratorischen Muskeln betroffen, die dritte scheint sich nicht wesentlich von anti-AChR-positiven Patienten zu unterscheiden.

Die sich häufig bei Frauen jüngeren Alters (oft unter 40 Jahren) manifestierende Erkrankung verläuft akut bis subakut mit milden bis schweren Symptomen, die auch in einer tödlichen myasthenischen Krise gipfeln können. Allgemein werden schwerere Krankheitsverläufe als bei der anti-MuSK-negativen Variante der **SNMG** beobachtet. Initial finden sich oft Symptome extraokulärer Muskeln mit Ptosis und Diplopie. In unterschiedlicher Reihenfolge entwickeln sich Myasthenien facialer Muskeln, progrediente

Schwäche bulbärer Muskeln (Dysarthrie, Schluckbeschwerden), eine Schwäche der Flexoren und/oder Extensoren des Nackens oder respiratorischer Muskeln. Nicht selten sind respiratorische Symptome bis hin zur respiratorischen Insuffizienz. Bei 40 % der Patienten ist die Muskulatur der Gliedmaßen nicht betroffen. Auch progressive Muskelatrophien wurden beschrieben.

Von seltenen Ausnahmen (Kasuistik) abgesehen, entwickeln die Patienten keine Thymome (vgl. jedoch Tab. 1). Histologisch zeigen sich im Thymusgewebe keine oder nur minimale pathologische Veränderungen, vereinzelt Hyperplasien.

Elektromyographisch manifestiert sich die neuromuskuläre Transmissionsstörung oft erst bei der Einzelfaser-Elektromyographie (SFEMG). Die repetitive Stimulation der Gliedmaßenmuskeln ist oft normal, der Tensilontest negativ oder zweifelhaft. Trotz gleich schwerer Symptome sind die neuromuskulären Transmissionsstörungen in den Gliedmaßenmuskeln (Extensor digitorum communis, EDC) oft weniger markant als bei der seropositiven Myasthenia gravis oder bei anti-MuSK-negativen **SNMG**-Patienten. Abnorme Jitter und Blockaden können sich auf die befallene Augen-, Gesichts-, Nacken- und Atemmuskulatur beschränken. Auch atypische myopathische elektromyographische Veränderungen werden gefunden.

Therapeutisch führen Plasmapheresen zu einer teils dramatischen Verbesserung der Symptome. Eine immunsuppressive Therapie, wie sie auch bei anti-AChR-positiver Myasthenie angewendet wird, ist vielfach erfolgversprechend und führt zu einem Abfall der anti-MuSK-Titer. Cholinesterasehemmer werden oft schlecht vertragen und bringen, wie auch Thymektomien, abgesehen von dem Bericht einer Autorengruppe, keinen wesentlichen therapeutischen Erfolg.

Indikationen

Myastheniepatienten mit atypischer klinischer Präsentation. Verdacht auf Myasthenia gravis bei anti-AChR-negativen Patienten. Bei Patienten mit okulärer Myasthenie, die oft diagnostische Probleme bereiten, lassen sich in der Regel keine anti-MuSK nachweisen. Ein negativer anti-MuSK-Test schließt eine Myasthenie nicht aus. Die Untersuchung sollte vor dem Beginn einer immunsuppressiven Therapie erfolgen.

Diagnostik

Radioimmunopräzipitation mit der nativen ¹²⁵I-markierten bzw. mit einer in vitro transkribierten und translatierten ³⁵S-Methionin-markierten extrazellulären MuSK-Domäne.

Rekombinantes, in E. coli exprimiertes MuSK ist wegen Kreuzreaktionen mit Seren von Gesunden für den Antikörpernachweis nicht geeignet.

Untersuchungsmaterial

Serum, 1.0 mL, alternativ Vollblut, Heparin-, EDTA-, Citratblut oder -plasma.