



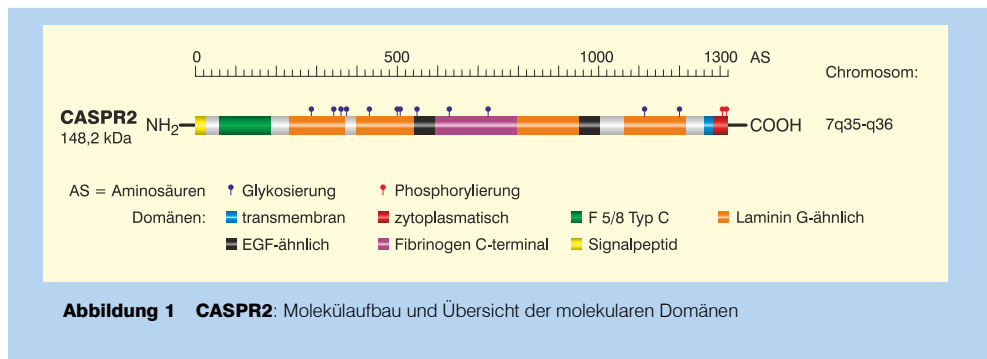
CASPR2-Autoantikörper

Synonyma	Contactin-associated protein-2; CNTP2
Material	Serum , <u>EDTA</u> - oder <u>Heparin</u> -Plasma, 1 mL Liquor , 1 mL
Referenzbereich	1 : < 10 Titer (IIFT) < 20 Ak-Ratio (RIP)
Methode	<u>IIFT</u> , Radioimmunopräzipitation (RIP)
Qualitätskontrolle	<u>intern</u>
Siehe auch	<ul style="list-style-type: none">▶ Kaliumkanalkomplex-Autoantikörper ((VGKC-Komplex-Autoantikörper)▶ Autoantikörper bei <u>paraneoplastischen Neuropathien</u>▶ Autoantikörper bei zentralnervösen Neuropathien▶ Autoantikörper bei peripheren Neuropathien▶ <u>Kaliumkanal-Autoantikörper</u> (Laborinformation 2004)
Anforderungsschein	<u>Download</u> und <u>Analysenposition</u> <u>Download</u> und <u>Analysenposition</u>
Auskünfte	<u>Immunpathologie</u>
Analysenkosten	EBM, <u>GOÄ</u>
Indikationen	<ul style="list-style-type: none">▶ Neuromyotonie▶ Morvan-Syndrom▶ Limbische Enzephalitis▶ Faziobrachiale Krampfanfälle, Epilepsie▶ Paraneoplastische oder autoimmune Bewegungsstörungen▶ Neuromuskuläre Übererregbarkeit, Myasthenia gravis▶ Paraneoplastische neurologische Symptome bei Thymomen oder kleinzelligen Lungenkarzinomen
Immunpathologie	Die Mehrzahl der mittels Radioimmunopräzipitationsassay (Hart et al. 1997) nachweisbaren Autoantikörper gegen spannungsgesteuerte Kaliumkanäle (anti-VGKC, v oltage g ated p otassium c hannels) richtet sich nicht, wie anfänglich vermutet, gegen die ¹²⁵ I- α -Dendrotoxin (¹²⁵ I- α -Dtx) markierten Kanalproteine vom Shaker-Typ Kv1.1/1.2/1.6 sondern gegen weitere, ebenfalls in den VGKC-Komplexen vorhandene Proteine wie das C ontactin a ssoziierte P rotein 2 (CASPR2), das L eucine rich G lioma- i nactivated Protein 1 (Lgi1) und das Tag1/Contactin 2 (Irani et al. 2010, Lai et al. 2010). Vermutlich existieren noch weitere komplexgebundene Autoantigene, da auch VGKC-Komplexe präzipitierende Autoantikörper auftreten, die mit keinem der bisher bekannten Kanal-assoziierten Proteine reagieren (Irani et al. 2010; Suleiman et al. 2011 a, b).
Autoantigen	Das Contactin assoziierte Protein 2 (CASPR2; Abbildung 1), ein Homologes des Drosophila Neurexin IV (Nrx-IV), ist ein Membranprotein mit einer kleinen intrazytoplasmatischen und einer großen extrazellulären Domäne. Sein codierendes Gen (<i>CNTNAP2</i>), eines der größten des menschlichen Genoms, ist in zahlreiche neurologische Erkrankungen involviert (Gilles de la Tourette Syndrom, Schizophrenie, Epilepsie, Autismus, ADHD (Aufmerksamkeitsdefizit/Hyperaktivitätsstörung) und geistige Retardierung). CASPR2 findet sich im Hippocampus, im Stratum molekulare und granulare des Kleinhirns sowie zusammen mit Kaliumkanälen der Shaker-Typen Kv1.1/1.2 in den juxtaparanodalen Re-

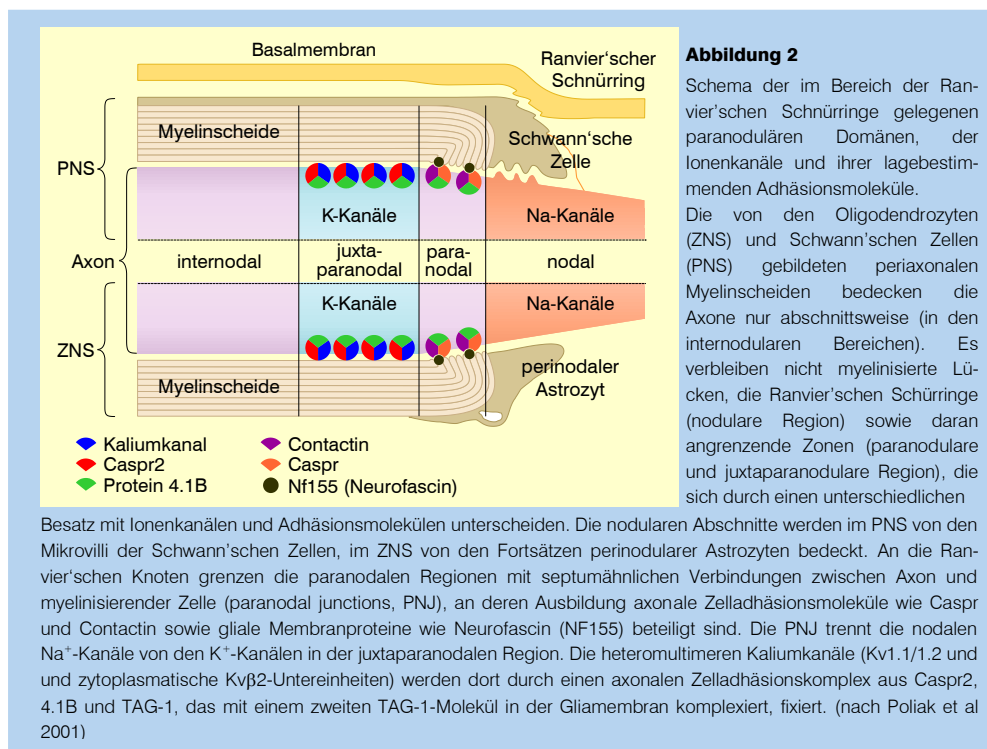


CASPR2-Autoantikörper

gionen peripherer Nerven. In seiner Zytoplasmaregion liegen Sequenzmotive, die eine Bindung an 4.1-Proteine (4.1B) vermitteln, Mediatoren, die Adhäsionsmoleküle, Ionenkanäle oder Rezeptoren mit dem Actin-Spektrin-Zytoskelett vernetzen. In dieser Region finden sich auch PDZ-Domänen bzw. -Bindungssequenzen (PDZ von PSD-95/SAP90-, Dlg- und ZO-1-Protein), d. h.



modulare Proteininteraktionsdomänen, die sequenzspezifisch an kurze C-terminale oder intramolekulare Peptide binden und zahlreiche Funktionen wie z. B. die Komplexierung und Verankerung von Transmembranproteinen vermitteln. Es wurde vermutet, dass solche Interaktionen für die Bindung von CASPR2 an die Kaliumkanalproteine sowie für die Komplexierung von CASPR2 mit TGA-1 von Bedeutung sind. In den juxtaparanodalen Regionen der Ranvier'schen Schnürringe vermittelt CASPR2 zusammen mit TGA-1, einem immunoglobulinähnlichen Adhäsionsmolekül und 4.1B (Abbildung 2) die ordnungsgemäße Lokalisierung der Kaliumkanäle





CASPR2-Autoantikörper

(Shaker-Typ Kv1.1/1.2; siehe Kaliumkanal-Autoantikörper; Poliak et al. 1999, 2001, 2003; Traka et al. 2003; Horresh et al. 2008, 2010; Bei et al. 2009). Die Verteilung verschiedener Ionenkanäle auf bestimmte Membrandomänen in der Umgebung der Ranvier'schen Schnürringe dient der schnellen und effektiven Erregungsleitung in myelinisierten Neuronen.

Autoantikörper

Bei etwa 20 % der Patienten mit präzipitierenden Autoantikörpern gegen ^{125}I - α -Dtx VGKC-Komplexe finden sich spezifische Antikörper gegen CASPR2. Es besteht eine gute Korrelation zwischen der Menge der präzipitierten ^{125}I - α -Dtx VGKC-Komplexe und dem Titer der CASPR2-spezifischen Autoantikörper (Irani et al. 2010). Autoantikörper gegen CASPR2 können auch zusammen mit Antikörpern gegen andere Kaliumkanalantigene (anti-Lgi1, Contactin-2/Tag-1, anti-Kv1.1/1.2) auftreten (Irani et al. 2010; Loukaides et al. 2012). Die bisherigen Untersuchungen beschränkten sich in der Regel auf den Nachweis von Antikörpern vom Isotyp IgG. Daten über die Beteiligung anderer Immunglobulinisotypen und -subtypen liegen nicht vor.

Klinik

Autoantikörper gegen CASPR2 fanden sich in einer Studie vor allem bei Patienten mit Neuro-myotonie und Morvan-Syndrom seltener bei den Patienten mit limbischer Enzephalitis, die häufiger Autoantikörper gegen Lgi1 aufwiesen. Anti-CASPR2, Neuromyotonie und/oder Morvan-Syndrom waren häufig mit malignen Tumoren assoziiert (Tabelle 1). Etwa ein Drittel der anti-CASPR2 positiven Patienten entwickelt Tumoren (Thymome, einmal Endometriumkarzinom; Irani et al. 2010, Vincent und Irani 2010). In einer weiteren Studie mit acht anti-CASPR2 positiven Patienten fanden sich in sieben Fällen Symptome einer Enzephalopathie mit Krampfanfällen, in fünf eine Neuropathie oder PNH, einmal eine Assoziation mit Myasthenia gravis, eine Assoziation mit Tumoren wurde nicht beobachtet (Lancaster et al. 2011). Tumorfremie Patienten sprachen in der Regel gut auf eine Immunotherapie an.

Tabelle 1 Symptome anti-CASPR2 positiver Patienten

Erkrankung	[%]
Neuromyotonie (allein)	34
Morvan-Syndrom oder Neuromyotonie	52
Morvan-Syndrom (isoliert)	16
Insomnie	32
Maligne Tumoren (Thymome)	32
Limbische Enzephalitis	37
Epilepsie (allein)	11
Amnesie	52
Konfusion/Disorientierung	42
Krampfanfälle	52
Patholog. Temporallappen-MRT	26
Hyponatriämie	10

Immunpathologie

Die Ursachen der Entstehung von Autoantikörpern gegen CASPR2 sowie gegen andere in den VGKC-Komplexen vorkommende Proteine sind bisher nicht geklärt. Die Stimulation der Immunantwort durch eine ektopische Expression von CASPR2 z. B. in malignen Tumoren, wie sie bei Autoantikörpern bei paraneoplastischen Neuropathien vermutet wird, konnte bei CASPR2 bisher noch nicht nachgewiesen werden. Unbekannt ist, ob Antikörper gegen CASPR2 direkt oder indirekt an der Genese der neurologischen Symptome beteiligt sind. Da es sich bei CASPR2 um ein überwiegend extrazellulär gelegenes Molekül handelt, kann man davon ausgehen, dass CASPR2 in Nerven und Hippocampusneuronen auch *in vivo* für Autoantikörper akzessibel ist.



CASPR2-Autoantikörper

Daher könnten Autoantikörper gegen CASPR2 die ordnungsgemäße Clusterbildung von CASPR2/Kv1.1/1.2-Komplexen in den Axonen peripherer Nerven stören und dadurch die Symptome der Neuromyotonie, von neuropathischen Schmerzen und autonomen Dysfunktionen auslösen. Der teilweise gute Erfolg immuntherapeutischer Maßnahmen würde ebenfalls für solche Immunpathomechanismen sprechen, zumal wenn die klassische antiepileptische Therapie erfolglos bleibt. Die Schlafstörungen, ein wichtiges Symptom des Morvan-Syndroms erklären sie allerdings nicht. Erstaunlich ist die nicht seltene Koinzidenz von autoimmunen und genetischen Störungen am gleichen Zielmolekül. Mutationen des *CNTNAP2*-Gens, das CASPR2 kodiert, sind mit Epilepsie, Störungen des kognitiven Denkens und Beeinträchtigung peripherer Nervenfunktionen (Kumar und Christian 2009) assoziiert.

Nachweismethoden Aufgrund der Präzipitation ¹²⁵I- α -Dendrotoxin markierter Kaliumkanalproteine aus Digotonin-behandelten Hirnextrakten wurde vermutet, dass sich Kaliumkanal-Autoantikörper ähnlich wie Acetylcholinrezeptor-Autoantikörper bei Patienten mit Myasthenia gravis gegen die Kanalbildenden Proteine richten würden (Kleopa et al. 2006). Einige Beobachtungen ließen jedoch Zweifel an diesen Vorstellungen aufkommen. Die Patientenserum präzipitierten nur selten reine ¹²⁵I- α -Dtx markierte oder *in vitro* transkribierte und translatierte ³⁵S-Methionin-markierte Kanalproteine (eigene Beobachtungen).

Bei der Extraktion von Kaliumkanälen aus neuronalen Geweben bleiben auch nach milder Digotoninbehandlung Komplexe von kanalbildenden Proteinen von Shaker-Typ (Kv1.1/Kv1.2) sowie assoziierte Proteine wie CASPR2, Lgi1 und Tag-1 bestehen. In Radiopräzipitationsassays präzipitieren gegen CASPR2 gerichtete Antikörper daher den gesamten Proteinkomplex zusammen mit den ¹²⁵I- α -Dtx-markierten Kv1.1/1.2-Proteinen (Nachweis von sog. VGKC-Komplexantikörpern). Erst eine Behandlung der Extrakte mit stärkeren Detergenzien wie Natri-

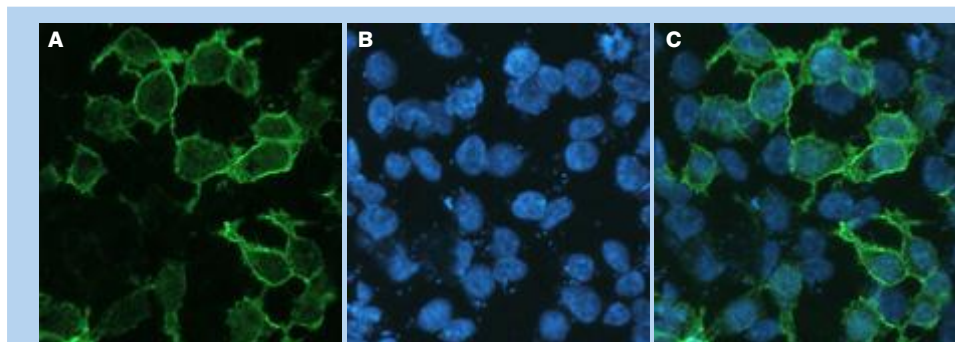


Abbildung 3

Indirekter Immunofluoreszenztest zum Nachweis von anti-CASPR2. Mit einem, humanes CASPR2 enthaltenden Plasmid transient transfizierte human embryonic kidney (HEK293) Zellen wurden mit anti-CASPR2 positivem Patientenserum inkubiert. **A**: Die CASPR2-expressierenden Zellen zeigen eine deutliche Fluoreszenz, während die nicht CASPR2 exprimierenden Zellen keine perinukleäre Fluoreszenz aufweisen. In **B** wurden die Zellkerne mit DAPI dargestellt. In **C** findet sich eine Überlagerung der Fluoreszenzen von **A** und **B**. Gebundene anti-CASPR2 wurden mit fluoreszenzmarkiertem anti-human-IgG dargestellt.

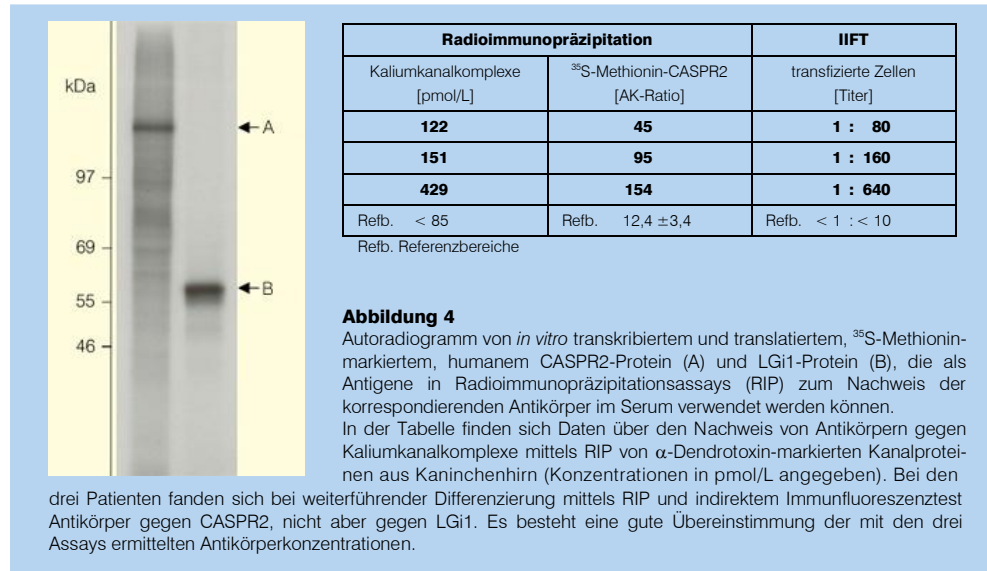
Objektivvergrößerung 40-fach.

umdodecylsulfat dissoziiert die assoziierten Proteine, die Präzipitation der Iod-markierten Kanalproteine unterbleibt (Irani et al. 2010).

Antikörper gegen CASPR2 lassen sich immunhistologisch an Nerven-Zupfpräparaten (teased nerves) nachweisen. Sie färben die juxtapanodalen Regionen an den Ranvier'schen Schnürringen. Auch immunhistologische Untersuchungen der Hippocampusregion von Gehirnschnitten von Maus und Ratte oder immunhistologische Untersuchungen an kultivierten Hippocam-



CASPR2-Autoantikörper



pusneuronen können den Verdacht auf die Anwesenheit dieser Antikörper bestätigen. Diese Methoden sind aber nicht spezifisch und müssen durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

Für den spezifischen Nachweis von Autoantikörpern gegen CASPR2 stehen derzeit ein indirekter Immunfluoreszenztest (Abbildung 3) mit in transfizierten HEK293-Zellen exprimiertem Casp2 (Irani et al. 2010) bzw. der in unserem Labor entwickelte Radioimmunopräzipitationstest (Abbildung 4) unter Verwendung von *in vitro* transkribiertem und translatiertem

³⁵S-Methionin-markiertem CASPR2 als Antigen zu Verfügung. Diese spezifischen Untersuchungen können aber noch nicht den Nachweis präzipitierender VGKC-Komplex-Autoantikörper ersetzen, da nicht in allen Fällen bei positivem Ausfall der Untersuchung Kaliumkanal-Autoantikörper, anti-CASPR2 oder eines der anderen assoziierten Proteine nachgewiesen werden kann (Suleiman et al. 2011 a, b).

Literatur

Hart IK, Waters C, Vincent A, Newland C, Beeson D, Pongs O, Morris C, Newsom-Davis J. Autoantibodies detected to expressed K⁺ channels are implicated in neuromyotonia. Ann Neurol; 41: 238 - 246 (1997)

Horresh J, Poliak S, Grant S, Bredt D, Rasband MN, Peles E: Multiple molecular interactions determine the clustering of Caspr2 and Kv1 channels in myelinated axons. J Neurosci; 28: 14213 - 14222 (2008)

Horresh J, Bar V, Kissil JL, Peles E: Organization of myelinated axons by Caspr and Caspr2 requires the cytoskeletal adapter protein 4.1B. J Neurosci; 30: 2480 - 2489 (2010)

Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, Peles E, Buckley C, Lang B, Vincent A: Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. Brain; 133: 2734 - 2748 (2010)

Irani SR, Bien CG, Lang B: Autoimmune epilepsies. Curr Opin Neurol; 24: 146 - 153 (2011)

Kleopa KA, Elman LB, Lang B, Vincent A, Scherer SS: Neuromyotonia and limbic encephalitis sera target mature Shaker-type K⁺ channels: subunit specificity correlates with clinical manifestations. Brain; 129: 1570 - 1584 (2006)



CASPR2-Autoantikörper

Kumar RA, Christian SL. Genetics of autism spectrum disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*; 9: 188 - 197 (2009)

Lai M, Huijbers MG, Lancaster E, Graus F, Bataller L, Balice-Gordon R, Cowell JK, Dalmau J: Investigation of LGI1 as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: a case series. *Lancet Neurol*; 8: 776 - 785 (2010)

Lancaster E, Huijbers MG, Bar V, Boronat A, Wong A, Martinez-Hernandez E, Wilson C, Jacobs D, Lai M, Walker RW, Graus F, Bataller L, Illa I, Markx S, Strauss KA, Peles E, Scherer SS, Dalmau J: Investigations of caspr2, an autoantigen of encephalitis and neuromyotonia. *Ann Neurol*; 69: 303 - 311 (2011)

Loukaides P, Schiza N, Pettingill P, Palazis L, Vounou E, Vincent A, Kleopa KA: Morvan's syndrome associated with antibodies to multiple components of the voltage-gated potassium channel complex. *J Neurol Sci*; 312: 52 - 56 (2012)

Panzer J, Dalmau J: Movement disorders in paraneoplastic and autoimmune disease. *Curr Opin Neurol*; 24: 346 - 353 (2011)

Poliak S, Gollan L, Martinez R, Custer A, Einheber S, Salzer JL, Trimmer JS, Shrager P, Peles E: Caspr2, a new member of the neurexin superfamily, is localized at the juxtaparanodes of myelinated axons and associates with K⁺ channels. *Neuron*; 24: 1037 - 1047 (1999)

Poliak S, Gollan L, Salomon D, Berglund EO, Ohara R, Ranscht B, Eilior Peles E: Localization of Caspr2 in myelinated nerves depends on axon-glia interactions and the generation of barriers along the axon. *J Neuroscience*; 21: 7568 - 7575 (2001)

Poliak S, Salomon D, Elhanany H, Sabanay H, Kiernan B, Pevny L, Stewart CL, Xu X, Chiu SY, Shrager P, Furley AJW, Peles E: Juxtaparanodal clustering of Shaker-like K⁺ channels in myelinated axons depends on Caspr2 and TAG-1. *J Cell Biol*; 162: 1149 - 1160 (2003)

Suleiman J, Brenner T, Gill D, Troedson C, Sinclair AJ, Brilot F, Vincent A, Lang B, Dale RC: Immune-mediated steroid-responsive epileptic spasms and epileptic encephalopathy associated with VGKC-complex antibodies. *Dev Med Child Neurol*; 53: 1058 - 1060 (2011 a)

Suleiman J, Brenner T, Gill D, Brilot F, Antony J, Vincent A, Lang B, Dale RC: VGKC antibodies in pediatric encephalitis presenting with status epilepticus. *Neurology*; 76: 1252 - 1255 (2011 b)

Traka M, Goutebroze L, Denisenko N, Bessa M, Nifli A, Havaki S, Iwakura Y, Fukamauchi F, Watanabe K, Soliven B, Girault JA, Karagogeos D: Association of TAG-1 with Caspr2 is essential for the molecular organization of juxtaparanodal regions of myelinated fibers. *J Cell Biol*; 162: 1161 - 1172 (2003)

Vincent A, Irani SR: Caspr2 antibodies in patients with thymomas. *J Thorac Oncol*; 5: (10 Suppl 4): S277- S280 (2010)