

Aus dem CharitéCentrum für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie

Klinik für Neurologie und Experimentelle Neurologie Berlin

Direktor Prof. Dr. med. Matthias Endres

Habilitationsschrift

**Immunologische Charakterisierung von Patienten mit Chronisch  
Inflammatorisch Demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP) und  
ihren Varianten**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Neurologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Juliane Klehmet**

**geboren in Stendal**

Eingereicht: März 2020

Dekan: Prof. Dr. med. Axel Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. Helmar C. Lehmann, Köln
2. Gutachter: Prof. Dr. Jan Lünemann, Münster

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	4
<b>1. Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1. Wesen und Verlauf der chronisch inflammatorisch demyelinisierenden Polyneuropathie (CIDP)	6
1.2. Zelluläre Immunantworten und Autoantikörper bei der CIDP	8
1.3. Fragestellungen dieser Arbeit	10
<b>2. Eigene Arbeiten</b>	
2.1. Effektive Behandlung mit intravenösen Immunglobulinen reduziert die autoreaktive T-Zell-Antwort bei Patienten mit CIDP	13
<p>Klehmet J, Goehler J, Ulm L, Kohler S, Meisel C, Meisel A, Harms H. Effective treatment with intravenous immunoglobulins reduces autoreactive T-cell response in patients with CIDP. <i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i> 2015;86:686-91.</p>	
2.2. Zirkulierende Lymphozyten und T-Memory-Subpopulationen in Glukokortikosteroid- versus IVIG-behandelten CIDP-Patienten	21
<p>Klehmet J, Staudt M, Ulm L, Unterwalder N, Meisel A, Meisel C. Circulating lymphocyte and T memory subsets in glucocorticosteroid versus IVIG treated patients with CIDP. <i>J Neuroimmunol.</i> 2015;283:17-22.</p>	
2.3. Unterschiede in der peripheren Myelin-antigen-spezifischen T-Zell-Antwort und der T-Memory-Subpopulationen in atypischer versus typischer CIDP	29
<p>Staudt M, Diederich JM, Meisel C, Meisel A, Klehmet J. Differences in peripheral myelin antigen-specific T cell responses and T memory subsets in atypical versus typical CIDP. <i>BMC Neurol.</i> 2017;17:81.</p>	
2.4. Muster Neurofascin- und kompakt Myelin-antigen-spezifischer T-Zell-Antworten bei der CIDP und ihren atypischen Varianten	38
<p>Diederich JM; Staudt M, Meisel C, Hahn K; Meisl E; Meisel A; Klehmet J. Neurofascin and Compact Myelin Antigen-Specific T Cell Response Pattern</p>	

in Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Subtypes.  
Frontiers Neurology 2018;9:171.

2.5.	Analyse von Anti-Gangliosid-Antikörpern mittels Line-Immunoassay in Patienten mit chronisch inflammatorisch demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP)	48
	Klehmet J, Marschenz S, Ruprecht K, Wunderlich B, Buettner T, Hiemann R, Roggenbuck D and Meisel A. Analysis of anti-ganglioside antibodies by a line immunoassay in patients with chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies (CIDP). Clin Chem Lab Med 2018;56:919-26.	
<b>3.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>58</b>
3.1.	Autoreaktive Th1-Antworten gegenüber neuen peripheren Myelin-Antigenen und para/nodalen Neurofaszin-Antigenen	58
3.2.	Die Rolle der T-Memory-Zellen bei der CIDP	59
3.3.	Unterschiede in der Immunantwort bei der CIDP und ihren Varianten	60
3.4.	Die Rolle der Gangliosid-sowie der Sulfatid-Antikörper bei Immunneuropathien	62
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>62</b>
<b>5.</b>	<b>Liste der einbezogenen eigenen Publikationen</b>	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>Literatur</b>	<b>66</b>
	Danksagung	72
	Erklärung gemäß § 4 (3) HabOMed	73

## Abkürzungen

AAN	<i>engl.</i> American Academy of Neurology
aGAAb	<i>engl.</i> anti-ganglioside autoantibody
aGD1b	anti-GD1b
aGM1	anti-GM1
Ak	Antikörper
aSF	anti-Sulfatid
CIDP	chronisch inflammatorisch demyelinisierende Polyneuropathie
DADS	<i>engl.</i> Distal Acquired Demyelinating Polyneuropathy
EAN	Experimental Autoimmune Neuritis
EFNS	<i>engl.</i> European Federation of Neurological Sciences
ELISPOT	<i>engl.</i> Enzyme Linked Immunospot Assay
Engl.	Englisch
GS	Glukosteroide
HC	<i>engl.</i> Healthy control
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin
IN	Immunneuropathien
INCAT	<i>engl.</i> Inflammatory Neuropathy Cause And Treatment
IVIG	intravenöse Immunglobuline
MADSAM	<i>engl.</i> Multifocal Acquired Demyelinating Sensory And Motor Polyneuropathy
MAG-Ak	Myelin-assoziierte Glykoprotein-Antikörper
MBP	<i>engl.</i> Myelin Basic Protein
MMN	Multifokal Motorische Neuropathie
MRC	<i>engl.</i> Medical Research Council
MS	Multiple Sklerose
NF155	Neurofaszin 155
NF186	Neurofaszin 186
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
ON	<i>engl.</i> Other Neuropathy
OND	<i>engl.</i> other neuromuscular disorder

P0	Peripheres Myelinprotein 0
P2	Peripheres Myelinprotein 2
PBMC	<i>engl.</i> Peripheral Blood Mononuclear Cell
PMP22	Peripheres Myelinprotein 22
PNS	<i>engl.</i> Peripheral Nerve Society
PPH	Plasmapherese
ROC	<i>engl.</i> Receiver-Operating-Characteristics
Th1	Typ1 T-Helferzelle
TCM	<i>engl.</i> central memory T cells
TEM	<i>engl.</i> effector T cells
TEMRA	<i>engl.</i> effector memory RA+ T cells

## 1. Einleitung

### 1.1. Wesen und Verlauf der chronisch inflammatorisch demyelinisierenden Polyneuropathie (CIDP)

Die Charité verfügt seit vielen Jahren über eine im Deutschlandvergleich sehr große Sprechstunde mit vielen Patienten, die unter immunvermittelten Polyneuropathien leiden. Die chronisch inflammatorisch demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) stellt hierbei den größten Anteil der Patienten in der Spezialsprechstunde dar. Die CIDP ist eine erworbene und behandelbare Erkrankung peripherer Nerven und ihrer Wurzeln mit einer autoimmunvermittelten Pathogenese. Die Erkrankung wurde erstmals zu Beginn des 20. Jahrhunderts beschrieben mit dem klinischen Hauptmerkmal eines proximalen und distalen sensomotorischen neuropathischen Syndroms mit seit dieser Zeit definierten elektrodiagnostischen, histopathologischen aber auch therapeutischen Besonderheiten (Harris W and Newcomb 1929). Mittlerweile gibt es eine Vielzahl von entwickelten diagnostischen Kriterien, was auf die Schwierigkeit der Diagnosestellung ohne verlässliche Biomarker im Besonderen hinweist (AAN Task Force 1991; Koski et al. 2009; Saperstein et al. 2004; Van den Bergh et al. EFNS and PNS joint task force 2010).

Der Verlauf der CIDP ist typischerweise chronisch progredient, kann aber auch monophasisch oder schubförmig-remittierend sein (Chio et al. 2007; Viala et al. 2010). Die Diagnosestellung wird durch eine sehr heterogene klinische Präsentation der Erkrankung erschwert. Es werden hierbei die typische CIDP, die bei knapp der Hälfte der Fälle auftritt sowie eine Reihe von sogenannten atypischen Varianten unterschieden. Bei der typischen CIDP dominieren motorische Ausfälle. Charakteristisch ist das gleichzeitige Auftreten proximal und distal symmetrisch betonter Paresen an Armen und Beinen sowie distal betonten Hyp- und Parästhesien. Dabei ist die Reflexantwort generalisiert vermindert bis vollständig erloschen (Lehmann et al. 2019). Hirnnervenausfälle treten bei ca. 15% aller Fälle auf (Eftimof und Van Schaik 2013). Die sogenannten atypischen Varianten umfassen 20-50% aller CIDP-Formen (Doneddu et al. 2019; Latov 2014). Hierzu gehören die *distal erworbene demyelinisierende Polyneuropathie- Distal Acquired Demyelinating Polyneuropathy- DADS* (ca. 7-35%) mit sensomotorischer Beeinträchtigung der distalen Extremitäten, die oftmals mit einer sensiblen Gangataxie einhergeht sowie die *Multifocal Acquired Demyelinating Sensory And Motor Polyneuropathy-MADSAM* (ca. 4-15%), die durch einen sensomotorisch

asymmetrischen Befall gekennzeichnet ist, wobei hier die Arme mehr betroffen sind als die Beine. Darüber hinaus sind die rein sensible CIDP (ca. 4-30%) sowie deutlich seltener auftretende rein motorische CIDP (<10%) und die fokale CIDP (ca. 2-4%) bekannt (Doneddu et al. 2019; Eftimov und Van Schaik 2013; Rajabally et al. 2009; Viala et al. 2010).

Die CIDP kann in jedem Alter auftreten, hat aber einen Altersgipfel zwischen 60-70 Jahren. Die Prävalenz der CIDP liegt bei Erwachsenen bei 2-4 pro 100 000 (Lunn et al. 1999; Mahdi-Rogers et al. 2014; Van den Bergh et al. EFNS and PNS joint task force 2010). Sie ist somit eine sehr seltene Erkrankung und gehört zu der Gruppe der sogenannten *orphan diseases*.

Die sichere und korrekte Diagnose der CIDP ist wichtig, da sie im Gegensatz zu vielen anderen Polyneuropathien behandelbar ist. Dabei ist es von herausragender Bedeutung, dass die Diagnose zeitnah gestellt wird, um einen sekundär axonalen Schaden zu verhindern, der an einer dauerhaften Behinderung maßgeblich beteiligt ist (Harbo et al. 2008). Die richtige Diagnose kann basierend auf den EFNS-Kriterien relativ einfach gestellt werden, sofern der Patient alle charakteristische Symptome wie distale und proximale Paresen, eine generalisierte Reflexabschwächung, den elektrophysiologischen Nachweis demyelinisierender Veränderungen sowie den Nachweis einer Blut-Schrankenstörung im Liquor aufweist (Van den Bergh et al. 2010 EFNS and PNS joint task force 2010). Allerdings ist die sichere und zeitnahe Diagnose gerade für die Patienten, die an sogenannten atypischen Varianten leiden, häufig schwierig. Das liegt vor allem daran, dass für diese Formen bislang keine klaren diagnostischen Kriterien existieren (Doneddu et al. 2019; Latov 2014).

Während zum einen eine frühe Diagnose und Therapieeinleitung entscheidend ist für die Prognose der Patienten, gibt es zum anderen Hinweise darauf, dass viele Patienten aufgrund der diagnostischen Schwierigkeiten fälschlicherweise als CIDP diagnostiziert und somit oftmals einer unnötigen und sehr kostenintensiven Therapie unterzogen werden (Allen et al. 2015).

60-70% der Patienten sprechen auf eine der Primärtherapien an (Cocito et al. 2010; Hahn et al. 1996; Hughes et al. 2008). Dabei stellen intravenöse Immunglobuline (IVIg), Glukokortikoide (GS) und die Plasmapherese (PPH) die Therapie der 1. Wahl dar. Für die Dauertherapie kommen in aller Regel IVIGs und GS zur Anwendung. Ansprechraten und insbesondere das Nebenwirkungsprofil der genannten Therapieformen unterscheiden sich individuell jedoch zum Teil deutlich. Sie bilden die Entscheidungsgrundlage, neben sozioökonomischen Gründen, welche der Therapieformen individuell zur Anwendung kommt

(Hughes et al. 2001; Van den Bergh et al. EFNS and PNS joint task force 2010). Sofern eine der sog. *first-line* Therapien nicht anschlägt, sollte ein Therapiewechsel durchgeführt werden, der basierend auf retrospektiven Studien die Ansprechraten erhöht (Cocito et al. 2010). Allerdings sprechen ca. 20 % der Patienten auf keine der genannten Therapien an und verbleiben mit einer dauerhaften Behinderung (Kuwabara et al. 2006; Simmons et al. 1995; Viala et al. 2010). Bei der Wahl der Therapie ist zu beachten, dass einzelne der atypischen CIDP-Varianten unterschiedlich auf die empfohlenen *first-line* Therapie ansprechen (Doneddu et al. 2019). Dies könnte auf unterschiedliche zugrundeliegende Pathomechanismen hinweisen. Letztlich ist allerdings davon auszugehen, dass trotz frühzeitigem Beginn der zur Anwendung empfohlenen Therapien ca. 50% der Patienten mit einer dauerhaften Behinderung leben müssen, d.h. die Erkrankung ist nicht heilbar und schreitet auch unter der dauerhaften Therapie oftmals fort (Viala et al. 2010). Eine entscheidende Voraussetzung für die Entwicklung kausal wirksamer und somit kurativer Behandlungsformen der CIDP ist ein besseres Verständnis ihrer Ätiologie und Pathogenese. Trotz zunehmender wissenschaftlicher Bemühungen in den letzten Jahren ist die Ätiologie der CIDP und ihren Varianten jedoch nach wie vor ungeklärt.

## **1.2. Zelluläre Immunantworten und Autoantikörper bei der CIDP**

Bis dato sind die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen der CIDP nicht verstanden. Sowohl humorale als auch zelluläre Immunität scheinen in der Entstehung und in den Verlauf der Erkrankung involviert zu sein (Dalakas 2003; Keller et al. 2019; Van den Bergh et al. 1995). So fanden sich in histopathologischen Untersuchungen in ca. 50% aller untersuchten Präparate von CIDP-Patienten fokale lymphozytäre Infiltrationen, insbesondere in den Nervenwurzeln und Hinterstrangganglienzellen (Nagamatsu et al. 1999; Oh et al. 2005). Aktivierte T-Zellen wurden vermehrt im Blut von Patienten mit CIDP gefunden (Van den Bergh et al. 1995). Darüber hinaus wurden im Serum von CIDP-Patienten erhöhte Konzentrationen von pro-inflammatorischen Zytokinen nachgewiesen, die eine systemische Aktivierung von T-Lymphozyten anzeigen (Hartung et al. 1991). Diese unterschieden sich zwischen den einzelnen CIDP-Varianten (Beppu et al. 2015).

Langlebige Memory-B- und Memory-T-Lymphozyten sind die Hauptbestandteile des immunologischen Gedächtnisses. Sie sorgen dafür, dass durch erneute Exposition mit einem Antigen, welches bereits zu einem früheren Zeitpunkt zu einer Immunantwort geführt hat,

nunmehr eine deutlich schnellere humorale und/oder adaptive Immunantwort ausgelöst wird (Lanzavecchia und Sallusto 2000).

Anhand der Expression des CD45RA Rezeptors und des Lymphknoten-Homing-Rezeptors CCR7 werden hierbei vier verschiedene humane T-Lymphozyten-Subpopulationen unterschieden. Naive T-Lymphozyten exprimieren beide Rezeptoren (CCR7+CD45RA+). *Central Memory TCM* (CCR7+CD45RA-) T-Lymphozyten haben ein großes proliferatives Potential bei geringer sofortiger zytotoxischer Funktion und halten sich vorrangig in Lymphknoten auf. *Effector memory TEM* (CCR7-CD45RA-) exprimieren weder CD45RA noch CCR7 und migrieren zu dem inflammatorischen Gewebe via spezifischer Chemokinrezeptoren. Nach Antigenkontakt können sie schnell zur Sekretion von Zytokinen angeregt werden. *CD45RA+ T Effector Memory RA cells TEMRA* (CCR7-CD45RA+) T-Lymphozyten hingegen zeigen die stärkste zytotoxische Aktivität und Zytokinproduktion (IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5), sind aber in ihrem proliferativem Potential schwächer (Sallusto et al. 1999).

Es gibt in der Literatur Hinweise darauf, dass Autoimmunerkrankungen ein verändertes Repertoire an T-Memory-Zellen aufweisen können. So konnten beim Diabetes mellitus Typ 1 erhöhte Frequenzen für aktivierte CD4+ T-Lymphozyten, TEMRA und CD4+/CD8+ TEM gezeigt werden, während naive CD4+/CD8+ T-Lymphozyten wie auch CD4+/CD8+ TCM erniedrigt waren (Matteucci et al. 2011). Bei der Multiplen Sklerose waren ebenfalls erhöhte Frequenzen von CD8+ TEM bei allerdings erniedrigten Frequenzen von CD4+ naiven T-Lymphozyten im Blut nachweisbar (Haegeler et al. 2007).

Hinweise für autoreaktive antigenspezifische T-Zell-Reaktionen zeigten sich in einigen wenigen Vorarbeiten in der Literatur. So konnten im tierexperimentellen Modell der Experimental Autoimmune Neuritis (EAN) sowie in Patientenstudien einige periphere Myelin-Antigene identifiziert werden, die als Kandidatenantigene für die Immunpathogenese der CIDP verantwortlich sein könnten. Vordaten zeigen hierbei eine erhöhte Frequenz von T-Zell-spezifischen Antworten gegenüber Myelin Basisches Protein (MBP) sowie den sogenannten P-Peptiden, also Peripheres Protein PMP-22 (PMP-22), Peripheres Protein 0 (P0) und Peripheres Protein 2 (P2) (Csurhes et al. 2005; Sanvito et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009; Yan et al. 2001; Zhu et al. 1994), die Bestandteile des kompakten Myelins sind. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass die Immunisierung mit diesen Antigenen eine Neuropathie auslösen kann (Adam et al. 1989; Hughes et al. 2006; Maurer et al. 2002). Für die Antigene P0 und P2 konnten in einigen

Studien neben der T-Zell spezifischen Autoimmunreaktion auch spezifische Antikörper gefunden werden (Khalili-Shirazi et al. 1993).

Der Elispot-Assay stellt derzeit die sensitivste Methode zur Detektion von Zytokin-produzierenden antigen-spezifischen T-Zellen dar (Ranieri et al. 2014; Lehmann et al. 2012). Autoantigen-spezifische, also autoreaktive, T-Zellen erscheinen normalerweise in einer extrem niedrigen Frequenz (1/100 000-1/1 000 000) im Blut, so dass ihre Detektion eine Herausforderung darstellt. Der Elispot macht die Detektion durch Erfassung der sekretorischen Aktivität dieser Zellen *ex vivo* möglich und bietet damit die Voraussetzung zur sensitiven Quantifizierung von myelin-spezifischen T-Zellen aus dem Blut bei CIDP-Patienten (Lehmann et al. 2012).

Neben zellulären Immunantworten haben sich eine Vielzahl an Forschungsarbeiten mit der Frage nach möglichen Antikörpern insbesondere der paranodalen Region bei der CIDP beschäftigt. Dabei sind Antikörper gegen Neurofascin 155 (NF155) in den Fokus gerückt, die vermehrt bei Patienten mit spezifischen atypischen Merkmalen zu finden sind (Querol et al. 2014; Ogata et al. 2015). Allerdings ist die Prävalenz dieser Neurofascin-spezifischen Antikörper insgesamt sehr niedrig (Ng et al. 2012; Querol et al. 2014). Anders als bei NF155-spezifischen Antikörpern ist der diagnostische Wert der Gangliosid-Antikörper bei der CIDP nach wie vor unklar. Im Gegensatz dazu finden sich dagegen GM1-IgM Antikörper in erhöhter Prävalenz bei der Multifokal Motorischen Neuropathie (MMN) und anti-MAG Antikörper bei der DADS (Katz et al. 2000; Nobile-Orazio et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2014).

### **1.3. Fragestellungen dieser Arbeit**

In der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift wurden verschiedene Fragen zur zellulären Immunantwort und deren möglicher Bedeutung bei der CIDP und ihren Varianten untersucht. Langfristiges Ziel der vorliegenden Arbeiten ist es, mögliche Biomarker bei der CIDP zu identifizieren. Hierbei stellte sich insbesondere die Frage nach diagnostisch sinnvollen Markern, die bei der Abgrenzung zu anderen nicht-immunogenen Neuropathien sowie bei der Unterscheidung zwischen typischer und atypischer CIDP einsetzbar sein könnten. Eine weitere Frage stellte sich nach möglichen prädiktiven Markern für ein Therapieansprechen und Prognose.

In den dargestellten Forschungsarbeiten wurde versucht, die für das pathogenetische Verständnis von Immunneuropathien mit Schwerpunkt CIDP relevanten Fragen zu beantworten:

1. Gibt es Hinweise für periphere myelin-spezifische T-Zell-Antworten im Blut von Patienten mit CIDP und ändern sich diese unter der Langzeittherapie mit intravenösen Immunglobulinen?
2. Unterscheiden sich unbehandelte CIDP-Patienten von Patienten, die dauerhaft mit Glukokortikosteroiden bzw. mit intravenösen Immunglobulinen behandelt werden hinsichtlich ihrer Frequenz von Lymphozyten und T-Memory-Zellen?
3. Sind typische und atypische CIDP auch hinsichtlich ihrer zellulären Immunantworten gegenüber Myelin-Antigenen different? Finden sich MBP-spezifische T-Zell-Antworten auch bei der CIDP?
4. Inwieweit unterscheiden sich die typische CIDP von den einzelnen CIDP-Varianten DADS, MADSAM und sensible CIDP?
5. Gibt es Hinweise für eine erhöhte Frequenz von anti-Gangliosid- und anti-Sulfatid-Antikörpern bei Immunneuropathien im Vergleich zu Gesunden und zu Patienten mit anderen Autoimmunerkrankungen (Multiple Sklerose)?

Hierfür wurden in einer ersten Arbeit zunächst T-Zell-Gedächtniszellen sowie die autoreaktive Th1-Antworten gegenüber verschiedenen Epitopen, die den peripheren Myelin-Antigenen P2 sowie PMP22 entstammen, untersucht. Es wurden hierfür therapienaive CIDP-Patienten im Verlauf unter der Therapie mit intravenösen Immunglobulinen sowie Patienten, die eine dauerhafte Erhaltungstherapie mit IVIGs erhielten, untersucht (Klehm et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015). Daraufhin wurden in IVIG bzw. GS-Langzeit-behandelten Patienten die Lymphozyten – und T-Memory-Subpopulationen analysiert (Klehm et al. J Neuroimmunol. 2015). In einer darauffolgenden Arbeit wurde weitere periphere Myelin-Antigene, nämlich das Myelin Basische Protein (MBP) sowie auch das periphere Myelinprotein P0, die bislang nur im Tiermodell untersucht wurden, hinsichtlich ihres auto-antigenen Potenzials im peripheren Blut von CIDP-Patienten untersucht und nach Unterschieden zwischen der Gruppe der typischen CIDP sowie der atypischen analysiert (Staudt et al. 2017). Hier wurden in der Gruppe der atypischen Varianten interessanterweise Hinweise für ein aktivierteres Immunsystem gefunden. Dieses zeigte sich in tendenziell höheren IFN- $\gamma$ -Responsen gegenüber den getesteten Myelin-Antigenen PMP22, P2 sowie

neu auch MBP und P0 und war assoziiert mit höheren Frequenzen von CD4+TEM und –TCM-Subsets im Vergleich zu Patienten mit typischer CIDP. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde in einer sich anschließenden Arbeit sowohl die zelluläre Immunantwort gegenüber den aus den Vorarbeiten bekannten peripheren Myelin-Antigenen als auch erstmalig den (para)nodalen Antigenen Neurofascin NF155 und NF186 innerhalb der einzelnen atypischen Varianten sowie im Vergleich zu der Gruppe der Patienten mit typischer CIDP untersucht (Diederich et al. 2018). In einer weiteren Arbeit wurde die mögliche humorale Antwort durch Erfassung von Gangliosid- sowie Sulfatid-IgM als mögliche Biomarker bei Immunneuropathien mittels einer neuen Line-Immunoassays untersucht (Klehm et al. 2018).

## 2. Eigene Arbeiten

### 2.1. Effektive Behandlung mit intravenösen Immunglobulinen reduziert die autoreaktive T-Zell-Antwort bei Patienten mit CIDP

Klehmet J, Goehler J, Ulm L, Kohler S, Meisel C, Meisel A, Harms H. Effective treatment with intravenous immunoglobulins reduces autoreactive T-cell response in patients with CIDP. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86:686-91.

<https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-307708>

Frühere humane und tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass T-Zellen eine Rolle in der Pathogenese der CIDP spielen (Adam et al. 1989; Hughes et al. 2006; Van den Bergh et al. 1995). Hierbei scheinen insbesondere die peripheren Myelin-Antigene, die Bestandteil der kompakten Myelinstruktur sind, eine möglicherweise pathogenetisch bedeutsame Rolle zu spielen. So wurden autoreaktive T-Zell-Antworten für die Antigene P0, PMP22 und P2 in wenigen Patienten mit CIDP gefunden (Csurhes et al. 2005). Die Rolle der zellulären Immunantwort bei der CIDP wird zudem unterstrichen durch Hinweise für ein verändertes T-Zell-Gedächtnisrepertoire bei Autoimmunerkrankungen, wie z.B. der Wegner Granulomatose, dem Systemischen Lupus Erythematodes oder der Multiplen Sklerose (Abdulahad et al. 2006; Haegele et al. 2007; Sen et al. 2004).

In der Therapie der CIDP sind neben den Glukokortikosteroiden und der Plasmapherese seit 2008 die intravenösen Immunglobuline zugelassen, die sich als gut wirksam erwiesen haben (Hughes et al. 2008). Der Einsatz der IVIGs hat in den letzten Jahren stetig zugenommen. Allerdings ist der genaue Wirkmechanismus nach wie vor unklar.

Ziel der Studie war es, autoreaktive T-Zell-Antworten gegenüber den dem Myelin entstammenden Antigenen P2 und PMP22 sowie T-Memory-Subpopulationen in unbehandelten Patienten sowie im Langzeitverlauf nach Beginn einer immunmodulatorischen Therapie mit IVIGs zu untersuchen. Dabei wurden Patienten retrospektiv in Therapie-Responder und Non-Responder unterteilt. Diese Unterteilung wurde anhand des INCAT-Scores (Verbesserung um einen Punkt; Hughes et al. 2008), der Verbesserung im Medical Research Council Scale (MRC, Verbesserung um zwei Punkte, Cats et al. 2010) oder der Verbesserung der Gehstrecke um mindestens 50% definiert. Als

Kontrollgruppe dienten alters- und geschlechtspassende Gesunde sowie Patienten mit nicht-immunogener Polyneuropathie. Zur Quantifizierung der autoreaktiven T-Zell-Antworten diente der Elispot-Assay, ein sehr sensitive Methode, die es erlaubt, antigen-spezifische IFN- $\gamma$ -Antworten als Marker für autoreaktive T-Zellen auf Einzel-Zell-Ebene mit hoher Sensitivität zu detektieren (Lehmann et al. 2012)

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich in der Gruppe der Therapie-Responder eine erhöhte Frequenz an spezifischen IFN- $\gamma$ -Antworten gegenüber den peripheren Myelin-Antigenen PMP22 und P2 im Vergleich zu Non-Respondern, Patienten mit Langzeit-Therapie sowie Patienten mit anderen nicht-immunogener PNP (ON) und Gesunden (Healthy Control, HC). Interessanterweise wiesen CIDP-Patienten mit Langzeittherapie ähnlich niedrige Frequenzen von auto-antigen-spezifischen T-Zellen auf wie ON und HC. Untersuchungen von initial unbehandelten Patienten (therapienaive Patienten) im Verlauf zeigten eine deutliche Reduktion der auto-antigen-spezifischen T-Zell-Responsen unter der Langzeit-IVIG-Therapie (im Durchschnitt 20 Monate Therapiedauer), was statistisch relevant für die Epitope PMP 22<sub>120-133</sub>, PMP 22<sub>32-51</sub> sowie P2<sub>61-70</sub> war. In der Untersuchung der absoluten CD4+ und CD8 T+-Zell –Frequenzen zeigten sich keine Unterschiede zwischen Patienten zum Baseline-Zeitpunkt verglichen mit den Langzeit-Therapie Patienten und Kontrollen. Dagegen zeigten IVIG-Responder zum Baseline-Zeitpunkt höhere Frequenzen an CD4+ TCM und TEM im Vergleich zur HC und Langzeittherapiepatienten sowie an CD8+ TEM im Vergleich zur Gruppe der Non-Responder. Im Langzeitverlauf unter IVIG-Therapie zeigte sich eine Reduktion von CD8+ TEM. Diese Daten zeigen einen hemmenden Effekt der IVIG-Langzeittherapie auf myelin-spezifische T-Zell-Antworten verbunden mit einer Reduktion von Effektor-Memory-T-Zellen. Initial erhöhte PMP22 und P2-spezifische T-Zell-Antworten können möglicherweise als prädiktive Marker für ein Therapieansprechen auf IVIGs verwendet werden, was es in größer angelegten Kohortenstudien zu validieren gilt.

## 2.2. Zirkulierende Lymphozyten und T-Memory-Subpopulationen in Glukokortikosteroid- versus IVIG-behandelten CIDP-Patienten

Klehmet J, Staudt M, Ulm L, Unterwalder N, Meisel A, Meisel C. Circulating lymphocyte and T memory subsets in glucocorticosteroid versus IVIG treated patients with CIDP. *J Neuroimmunol.* 2015;283:17-22.

<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.03.023>.

Neben dem T-Zell-Gedächtniskompartiment (Sallusto et al. 1999) spielen auch die sog. Natürlichen Killerzellen (NK cells; Perricone et al. 2008) sowie Monozyten (Sanvito et al. Autoimmunity 2009) eine entscheidende modulierende Rolle in adaptiven und humoralen Autoimmunantwort. Die PREDICT-Studie konnte zeigen, dass hochdosierte Glukokortikosteroide eine ähnliche Wirksamkeit aufweisen im Vergleich zu IVIGs, interessanterweise jedoch zu deutlich längeren Remissionen führten (Eftimov et al. 2012). Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in IVIG bzw. GS-Langzeit-behandelten Patienten Lymphozyten- und T-Memory-Subpopulationen mit Hilfe der Durchflusszytometrie zu untersuchen und mit unbehandelten CIDP-Patienten sowie gesunden Kontrollen zu vergleichen. Monozyten zeigten sich in den unbehandelten CIDP-Patienten erhöht. NK- und B-Zellen waren in den GS-Patienten deutlich reduziert im Vergleich zu den unbehandelten CIDP-Patienten. CD4+T-Zellen waren in den unbehandelten CIDP-Patienten in erhöhter Frequenz vorhanden verglichen mit Kontrollen, insbesondere mit GS-Patienten. In den GS-Patienten waren durchweg alle CD4+Memory-Subpopulationen erniedrigt verglichen mit unbehandelten CIDP-Patienten und Kontrollen. Dagegen wiesen die IVIG-Patienten ein verändertes CD8+ Memory-Repertoire (erniedrigte CD8+ Central Memory T-Zellen [TCM] und T Effector Memory RA cells [TEMRA] Frequenzen) auf und bestätigten unsere Beobachtung aus der vorangegangenen Studie (Klehmet et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015). Vor allem GS-Patienten zeigten deutlich reduzierte Monozyten und B-Zellen und wiesen somit markantere Veränderungen auf als IVIG-Patienten. Ähnliches zeigte sich für die T-Memory-Subpopulationen, in der GS-Patienten vor allem eine deutlichere Reduktion der bei unbehandelten erhöhten CD4+TEM aufwiesen. Interessanterweise zeigten diese vor allem auch deutlich reduzierte CD4+naïve T-Zellen, die als Quelle der antigen-spezifischen T-Zell-Antworten diskutiert werden (Muraro et al. 2000). Eine Herabregulation der CD4+ naiven T-

Zellen könnte somit den langanhaltenden Therapieeffekt erklären, der nach Absetzen der Therapie in GS-Patienten beobachtet wurde.

### **2.3. Unterschiede in der peripheren Myelin-antigen-spezifischen T-Zell-Antwort und der T-Memory-Subpopulationen in atypischer versus typischer CIDP**

Staudt M, Diederich JM, Meisel C, Meisel A, Klehmet J. Differences in peripheral myelin antigen-specific T cell responses and T memory subsets in atypical versus typical CIDP. *BMC Neurol.* 2017;17:81.

<https://doi.org/10.1186/s12883-017-0860-z>.

Die Diagnose der CIDP kann schwierig sein vor dem Hintergrund der heterogenen klinischen Präsentation, was insbesondere durch die Vielzahl der sogenannten atypischen Varianten begründet ist (Doneddu et al. 2019; Latov 2014). Diese Varianten unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer klinischen Manifestationen, sondern zum Teil auch in ihrem Ansprechen auf die sog. *First line* Therapien, so dass eine unterschiedliche Pathogenese zu diskutieren ist.

Wir und andere hatten bereits zuvor gezeigt, dass T-Zell-Antworten gegenüber den peripheren Myelin-Antigenen PMP22 und P2 bei Patienten mit CIDP nachweisbar sind (Klehmet et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015, Csurhes et al. 2005). Darüber hinaus konnte im Mausmodell EAN eine pathogene Rolle für das kompakte Myelin-Antigen P0 nachgewiesen werden (Yan et al. 2001). Das MBP ist ein Hauptbestandteil des zentralen sowie des peripheren Myelins und wurde als immundominantes Antigen eine essentielle Rolle in der Immunpathogenese zugewiesen (Nave et al. 2014). Weder P0 noch MBP wurden bislang bei CIDP-Patienten untersucht. In der vorliegenden Studie zeigten sich in der Quantifizierung der myelin-spezifischen MBP- und P0 IFN- $\gamma$ -Antwort durch den Elispot-Assay erhöhte Frequenzen in hauptsächlich klinisch instabilen CIDP-Patienten verglichen mit Kontrollen. Interessanterweise wiesen Patienten mit einer atypischen CIDP ein aktivierteres Immunsystem auf, welches sich in tendenziell höheren IFN- $\gamma$ -Responsen gegenüber den getesteten Myelin-Antigenen PMP22, P2 sowie auch MBP und P0 darstellte und assoziiert war mit höheren Frequenzen von CD4+TEM und –TCM-Subsets im Vergleich zu Patienten mit typischer CIDP. Die verstärkte Myelin-spezifische Immunantwort in der Gruppe der atypischen CIDP verglichen mit der typischen CIDP-Kohorte könnte eine Ursache des schlechteren Therapieansprechens darstellen. Auf der anderen Seite könnte aber auch gerade die

verstärkte zelluläre Immunantwort in der Gruppe der atypischen CIDP ein Resultat des insuffizienten Therapieansprechens sein.

## 2.4. Muster Neurofascin- und kompakt Myelin-antigenspezifischer T-Zell-Antworten bei der CIDP und ihren atypischen Varianten

Diederich JM; Staudt M, Meisel C, Hahn K; Meinl E; Meisel A; Klehmet J. Neurofascin and Compact Myelin Antigen-Specific T Cell Response Pattern in Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Subtypes. *Frontiers Neurology* 2018;9:171.

<https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00171>

Vorarbeiten aus unserer Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass Th1-Antworten gegenüber den peripheren Myelin-Antigenen im Blut von CIDP-Patienten per IFN- $\gamma$ -Elispot-Assay nachweisbar sind und dass es offensichtlich Unterschiede zwischen den typischen und atypischen Varianten der CIDP gibt. Ergebnisse rezenter Studien haben zunehmend die (para)nodale Region als mögliches Ziel pathognomonischer Leitungsblöcke bei Immunneuropathien in den Fokus gerückt. So sind insbesondere Antikörper, die gegen das (para)nodale Antigen Neurofascin (NF 155 und NF186) gerichtet sind, bei der CIDP und der Multifokalen Motorischen Neuropathie (MMN) in allerdings sehr geringer Frequenz nachgewiesen worden (Ng et al. 2012; Querol et al. 2014; Devaux et al. 2012). Ziel der Arbeit war es, erstmalig nach T-Zell-Antworten, die gegen NF155 und NF186 gerichtet sind, bei Patienten mit CIDP sowie möglichen Unterschieden zwischen den einzelnen atypischen Varianten zu suchen. In diese Untersuchung wurden auch die bereits bekannten Antigene P0 182-200 sowie MBP 82-100 einbezogen. Es zeigten sich in der Gruppe der typischen CIDP-Patienten als auch in der MADSAM-Gruppe erhöhte IFN- $\gamma$ -Frequenzen gegenüber NF155 und NF186. Dagegen waren in der Gruppe der sensiblen CIDP, aber auch der typischen CIDP erhöhte Frequenzen gegenüber P0 180-199 sowie MBP 82-100 im Elispot-Assay nachweisbar waren verglichen mit gesunden Kontrollen und Patienten mit nicht-immunogenen Neuropathien (ON). Interessanterweise wies keiner der untersuchten Patienten Antikörper gegen NF155 oder NF186 im ELISA auf. In der Receiver-Operating-Characteristics (ROC)-Analyse stellte sich eine gute Trennschärfe für NF155 in der Gruppe der typischen CIDP und auch der MADSAM verglichen mit nicht-immunogenen Neuropathien dar. Die *area under the curve (AUC)* war für NF186 in der MADSAM-Gruppe im Vergleich zu ON und allen CIDP-Subtypen am höchsten, für P0 180-199 und MBP 82-100 in der Gruppe der sensiblen CIDP am höchsten. Insgesamt zeigten sich Th1-Antworten gegenüber mindestens zwei Antigenen in 77% der untersuchten CIDP-Patienten. Demgegenüber wiesen Patienten, die Th1-

Antworten gegenüber weniger als 2 Antigenen aufwiesen, spezifische klinische Merkmale auf: sie waren ältere weibliche Patienten mit einem höheren Behinderungsgrad (niedriger MRC und höherer INCAT-Score), zeigten verstärkt proximale Paresen sowie mehr neuropathische Schmerzen. Die Befunde der vorliegenden Arbeit lassen den Schluss zu, dass autoreaktive T-Zell-Antworten gegenüber Neurofascin und kompaktem Myelin in unterschiedlicher Gewichtung und Verteilung in der CIDP und den einzelnen atypischen Varianten in höherer Frequenz nachweisbar sind und somit als mögliche Biomarker zur Diagnostik und Verlauf dienen können. Es sind allerdings größere, multizentrische Studien inklusive anderer demyelinisierender und anderer immunogener Neuropathien zur Validierung dieser vonnöten.

## **2.5. Analyse von Gangliosid-Antikörpern durch einen Line-Immunoassay in Patienten mit chronisch inflammatorisch demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP)**

Klehmet J, Marschenz S, Ruprecht K, Wunderlich B, Buettner T, Hiemann R, Roggenbuck D and Meisel A. Analysis of anti-ganglioside antibodies by a line immunoassay in patients with chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies (CIDP). *Clin Chem Lab Med.* 2018;56:919-26.

<https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0792>.

Die klinische heterogene Manifestation der CIDP und ihren Varianten lässt auf eine unterschiedliche Ätiopathogenese schließen. In den letzten Jahrzehnten sind neben der Entwicklung elektrophysiologischer und klinischer diagnostischer Kriterien eine Reihe von Antikörpern und ihre korrespondierenden Ziele identifiziert worden, die vornehmlich mit distinkten Subgruppen assoziiert sind, wie beispielsweise die NF155-Antikörpern in Patienten mit therapieresistentem Krankheitsverlauf und einem führend sensibel-ataktischem Syndrom sowie mit einer zentralen Demyelinisierung (Ogata et al. 2015; Querol et al. 2014). Im Gegensatz zu akuten Immunneuropathien ist der Stellenwert der Gangliosid-Antikörper in der Diagnostik der chronischen Immunneuropathien nur für eine Untergruppe validiert. Dies betrifft vor allem GM1-IgM für die Multifokal Motorische Neuropathie (MMN) sowie anti-Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG)- und anti-Sulfatid-Antikörper in der DADS (Katz et al. 2000; Nobile-Orazio et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014). Der enzymatische Immunoassay ist im Gegensatz zur Gaschromatographie in der Routine gut einsetzbar. In der vorliegenden Arbeit wurde ein neu entwickelter Line-Immunoassay als semiquantitative Methode zur Detektion von 11 Gangliosid-Antikörpern aGAAb (GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b and GQ1b) sowie anti-Sulfatid (aSF) im Serum von Patienten mit chronischen Immunneuropathien (nach EFNS CIDP und MMN) getestet. aGAAb-IgM waren im Serum von Patienten mit Immunneuropathien (IN) signifikant häufiger und diverser verglichen mit Patienten anderer neuromuskulärer Erkrankungen (OND), Gesunden (HC) wie auch im Vergleich zu Patienten mit Multipler Sklerose (MS). Positive Antworten gegenüber mindestens ein aGGAAb/SF-IgM waren bei IN häufiger als in den Kontrollen (27,9%). aSF-IgM war signifikant häufiger als in OND, anti-GM1-IgM im Vergleich zu OND und HC sowie anti-GD1b im Vergleich zu HC. Anti-GM1-IgM waren bei Patienten mit MMN (60%) häufiger als bei CIDP-Patienten

(12,5%). Patienten, die GM1, GM2 oder auch anti-SF-IgM aufwiesen, waren im Schnitt jünger. Interessanterweise wiesen Patienten mit aSF-IgM häufiger einen klinisch typischen Phänotyp (nach EFNS typische CIDP oder MMN) auf und zeigten häufiger Leitungsblöcke in der elektrophysiologischen Untersuchung. aGD1b war mit aGM1-IgM vergesellschaftet. Patienten mit mindestens zwei aGGAbs wiesen eine höhere diagnostische Sicherheit auf. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit einer sehr gut charakterisierten Kohorte von Patienten mit Immunneuropathien lassen auf eine pathogenetische Relevanz der Gangliosid-Antikörper aGM1, aGD1b sowie aSF schließen, die es in größer angelegten, multizentrischen Studien zu validieren gilt.

### 3. Diskussion

Die in der vorliegenden Habilitationsschrift zusammengefassten und zum großem Teil aufeinander aufbauenden Arbeiten verfolgten das Ziel, durch Untersuchung zellulärer, aber auch antikörper-vermittelter Mechanismen die zugrundeliegenden Pathomechanismen der noch weitgehend unverstandenen CIDP zu untersuchen. Langfristiges Ziel soll es sein, diagnostische Biomarker zu finden, die eine schnellere Diagnosefindung erlauben und somit den sekundär-axonalen Schaden und damit eine dauerhafte Behinderung verhindern. Diese sollen zudem zu einer höheren diagnostischen Sicherheit führen und damit die hohe Rate an Fehldiagnosen reduzieren sowie im optimalen Falle zu einer individuell zugeschnittenen „maßgeschneiderten“ Therapieentscheidung verhelfen.

#### **3.1. Autoreaktive Th1-Antworten gegenüber neuen peripheren Myelin-Antigenen und para/nodalen Neurofascin-Antigenen**

Alle bis dato verfügbaren first-line Therapien haben eine Ansprechrate von ca. 60-70%, bei entsprechendem Therapiewechsel können bis zu 80% Ansprechraten erreicht werden (Cocito et al. 2010). Eine frühe Diagnosestellung und damit Einleitung der Therapie kann den Verlauf begünstigen, insbesondere durch die Abwendung eines sekundär-axonalen Schadens, der in der Regel mit einer dauerhaften, irreversiblen Behinderung des Patienten einhergeht (Kieseier et al. 2018). In bislang nur sehr wenigen Studien wurden autoreaktive T-Zell-Antworten gegenüber den peripheren Myelin-Antigenen P2 und PMP22 bei Patienten mit Immunneuropathien untersucht, in denen sich nur vereinzelt positive Antworten bei CIDP-Patienten oder im Tiermodell EAN zeigten (Csurhes et. al 2005; Sanvito et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009; Yan et al. 2001;). Im Unterschied zu den genannten Arbeiten untersuchten wir therapie-naive Patienten, die nachfolgend auf IVIGs eingestellt wurden.

Für die Bestimmung myelin-antigenspezifischer T-Zell-Antworten wurde der Elispot-Assay eingesetzt, der eine robuste und sehr sensitive Methode darstellt. Dieser kann sowohl mit frischen als auch mit eingefrorenen PBMCs genutzt werden. Dabei benötigt der Elispot-Assay ca. 10mal weniger Zellen im Vergleich zur Durchflusszytometrie und bietet eine Sensitivität von 1:100 0000 (Lehmann et al. 2012). Er stellt somit eine exzellente Methode zur Detektion niedrigfrequenter auto-antigen spezifischer Zellen gerade auch im Langzeitverlauf dar.

Wir detektierten erhöhte P2- und PMP22- spezifische IFN- $\gamma$ -Antworten vor Therapieeinleitung, die unter der IVIG-Langzeit-Therapie deutlich zurückgingen, allerdings nur in der Gruppe der IVIG-Responder (Klehm et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015). Dies vermag auf einen spezifischen pathogenen Effekt der untersuchten Epitope hinweisen, der durch die Therapie mit IVIG gemindert werden kann. Allerdings berücksichtigte diese Studie viele andere in Frage kommende Antigene nicht und konnte diese Frage somit nicht hinreichend beantworten. Im Zuge dessen erweiterten wir das Antigen-Repertoire und analysierten im Folgenden zum einen das aus der Multiplen Sklerose bekannte immundominante Epitop des MBP (MBP 82-100) sowie das aus der EAN bekannte Epitop P0 180-199, welche bislang bei der CIDP noch nicht untersucht worden waren. Wir fanden für beide Antigene erhöhte Responsen im Vergleich zur Kontrollgruppe, interessanterweise mit deutlicher Betonung in der Gruppe der atypischen Varianten (Staudt et al. 2017). Rezente Studien weisen darauf hin, dass Antigene, die dem nicht-kompakten Myelin entstammen, also vornehmlich in den (para)nodalen Nervenabschnitten des Ranvierschen Schnürrings zu finden sind, möglicherweise ein hohes autoimmunologisches Potential aufweisen können (Ng et al. 2012; Ogata et al. 2015; Querol et al. 2014,). Wir suchten daher erstmals nach Neurofascin-spezifischen T-Zell-Antworten und fanden sowohl in der Gruppe der typischen CIDP-Patienten als auch in der MADSAM-Gruppe erhöhte IFN- $\gamma$ -Frequenzen gegenüber NF155 und NF186 (Diederich et al. 2018). Im Gegensatz zu bislang veröffentlichten NF-Antikörper-Studien (Delmont et al. 2017; Querol et al. 2014) fand sich in unseren zellulären Studien keine Assoziation zu distinkten klinischen Merkmalen, wie Tremor, Ataxie oder Therapieresistenz. Im Gegenteil, wir fanden eine insgesamt gute Therapieansprechrates in den Patienten, die eine Th1-Antwort gegenüber NF155 oder NF186 aufwiesen, was auf einen T-Zell-vermittelten Autoimmunprozess hindeuten kann. Diese These wird unterstützt durch unsere Beobachtung, dass NF-spezifische T-Zell-Antworten häufiger sind als die bislang veröffentlichten Antikörper-Prävalenzen (Devaux et al. 2012; Ng et al. 2012; Querol et al. 2014).

### **3.2. Die Rolle der T-Memory-Zellen bei der CIDP**

Das T-Zell-Gedächtniskompartiment beeinflusst die Antigenkontrolle und somit womöglich auch die Autoimmunantwort bei klassischen Autoimmunerkrankungen (Haeghele et al. 2007; Matteuci et al. 2011). Im Gegensatz zu bislang veröffentlichten Studien (Sanvito et al.

Autoimmunity 2009) fanden wir wiederholt ein verändertes T-Gedächtniskompartiment bei CIDP-Patienten, welches durch erhöhte Frequenzen von CD4+ TEM und TCM und zum Teil auch von CD8+ Effektorzellen charakterisiert war (Klehm et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015; Klehm et al. J Neuroimmunol. 2015 sowie Staudt et al. 2017). Wir fanden zudem Hinweise darauf, dass IVIG-behandelte Patienten ein verändertes CD8+Gedächtniskompartiment aufwiesen (Klehm et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015; Klehm et al. J Neuroimmunol. 2015). Zusammen mit den erhöhten Myelin-spezifischen T-Zellantworten können die erhöhten Frequenzen an Effektor-Memory-Zellen in den IVIG-Responder-Patienten auf einen chronischen autoantigen-induzierten Prozess hinweisen, der eine gute „Angriffsfläche“ für immunmodulatorische Therapien wie die IVIGs darstellt. Diese These wird zudem unterstützt durch unsere Beobachtung, dass es unter einer Langzeit-IVIG-Therapie zu einer signifikanten Reduktion der CD8+TEM und somit zu einem mehr anti-inflammatorischen Immunstatus kommt, der nachfolgend auch autoreaktive T-Zell-Antworten minimiert (Klehm et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015).

Im Gegensatz zu IVIG-behandelten Patienten wiesen Langzeit-Kortison-Patienten durchgehend reduzierte CD4+Subpopulationen auf (Klehm et al. J Neuroimmunol. 2015). Insbesondere die reduzierten CD4+naiven T-Zell-Frequenzen, die nur in den GS-behandelten Patienten zu finden waren, könnten die länger anhaltenden Remissionsphasen erklären, die nach Absetzen der Kortisontherapie im Vergleich zu IVIG zu beobachten waren (Eftimov et al. 2012; Nobile-Orazio et al. 2012). Naive T-Zellen regulieren die CD45RO- Gedächtniszellen nach Antigenkontakt und-priming hoch und führen so zu einer Differenzierung in Richtung Effektor-Memory-Zellen (Yamane and Paul 2013). Sie gelten daher als Quelle der antigen-spezifischen T-Zellen. Eine Reduktion dieser naiven T-Zellen durch Kortisontherapie könnte somit die antigen-spezifische T-Zellantwort verzögern und die längeren klinischen Remissionsphasen erklären.

### **3.3. Unterschiede in der Immunantwort bei der CIDP und ihren Varianten**

Die typische CIDP unterscheidet sich hinsichtlich ihres Therapieansprechens von der Mehrzahl der sogenannten atypischen Varianten (Nobile-Orazio J Peripher Nerv Syst. 2014). Zudem sind es gerade die atypischen Varianten, die in der klinischen Praxis große Probleme hinsichtlich einer schnellen diagnostischen Zuordnung und damit zügigen Einleitung einer

Therapie verursachen. Diese klinischen Unterschiede lassen auf differente zugrundeliegende Pathomechanismen schließen. Interessanterweise spiegelt sich diese Hypothese wenig bis gar nicht in den bislang veröffentlichten Studien zur CIDP wider. Unsere Ergebnisse implizieren, dass sich Patienten mit typischer CIDP von denen mit einer atypischer CIDP unterscheiden (Staudt et al. 2017). Überraschenderweise wiesen gerade die Patienten mit atypischer CIDP höhere Frequenzen an myelin-spezifischen T-Zellantworten sowie T-Effektor-Memory-Zellen auf. Über die Gründe kann an dieser Stelle nur spekuliert werden. Auf der einen Seite vermag die verstärkte Immunantwort gegenüber Myelin-Antigenen der Grund für ein schlechteres Ansprechen sein, andererseits aber auch die Folge eines insuffizienten Ansprechens. In einer auf diese ersten Beobachtungen aufbauenden Ergebnisse untersuchten wir konkret die myelin-spezifischen Antigene MBP 82-100 und P0 180-199 sowie die (para)nodalen Antigene NF155 und NF186 hinsichtlich spezifischer Th1-Antworten in Patienten mit typischer CIDP verglichen mit Patienten mit MADSAM, DADS und sensibler CIDP, also den häufigsten atypischen Varianten. Dabei zeigte sich, dass mindestens zwei positive antigen-spezifische T-Zell-Antworten hoch prädiktiv für jeden Subtyp der CIDP waren. Dabei wiesen MADSAM –Patienten und Patienten mit sensibler sowie klassischer CIDP die insgesamt breiteste Immunantwort auf. NF186-Antworten zeigten die größte Trennschärfe für MADSAM; MBP und P0-Antworten dagegen bei der sensiblen CIDP. Interessanterweise fanden wir im Gegensatz zu Vorpublikationen (Devaux et al. 2012; Ng et al. 2012; Querol et al. 2014) keinen einzigen Patienten, der NF155-Antikörper aufwies. Auch fanden sich in unserer Kohorte keine Assoziation zwischen distinkten klinischen Merkmalen und dem Vorkommen bestimmter T-Zell-Antworten. Allerdings zeigten Patienten, die positive NF155 T-Zell-Responsen aufwiesen, ein durchweg gutes Ansprechen auf immunmodulatorische Therapien, was letztlich auf einen mehr T-Zell gesteuerten Prozess hindeuten könnte. Zudem unterstreichen die in höherer Frequenz auftretenden NF-spezifischen Th1-Antworten die Bedeutung der nodalen und paranodalen Region und unterstützen damit die These des Ranvier'schen Knoten als wichtiges immunologisches Ziel bei Immuneuropathien. Im Gegensatz dazu zeigen die gute Trennschärfe von P0 und MBP-IFN- $\gamma$ -Antworten bei der sensiblen CIDP einen möglicherweise interessanten diagnostischen Aussagewert in Abgrenzung zu anderen Differentialdiagnosen, insbesondere der idiopathischen oder der diabetogenen Polyneuropathie. Vor dem Hintergrund der Seltenheit der Erkrankung und der damit einhergehenden geringen Patientenzahl sind größer

angelegte, multizentrische Studien inklusive anderer demyelinisierender Krankheitsbilder vorzuziehen, um die gefundenen T-Zell-Antworten als mögliche diagnostische Biomarker zu validieren.

### **3.4. Die Rolle der Gangliosid- sowie der Sulfatid-Antikörper bei Immunneuropathien**

Mittels neuartig entwickeltem Line-Immunoassay fanden wir in der Gruppe jüngerer Patienten mit Immunneuropathien signifikant höhere Frequenzen an GM1-IgM, aSF-IgM sowie GD1b-IgM Antikörpern im Vergleich zu Patienten mit anderen neuromuskulären Erkrankungen, Multipler Sklerose sowie Gesunden. Das Vorhandensein von mindestens einem anti-Gangliosid-Ak (aGAAb) war in 27,9% der Patienten mit Immunneuropathien zu finden (Klehmet et al. 2018) und unterschied sich damit relevant von anderen Vorarbeiten (Nobile-Orazio et al. 2010; Palavicini et al. 2016). Patienten, die mindestens zwei aGAAb aufwiesen, zeigten eine hohe Assoziation für eine nach EFNS-Kriterien definitive Diagnose. aSF zeigte sich insbesondere in der Gruppe mit definitiver CIDP und MMN erhöht, die insgesamt sehr gut auf Therapien ansprach (Klehmet et al. 2018). Im Gegensatz zu Vorarbeiten, die einen primär axonalen Schaden betonen (Dabby et al. 2000), könnte dies auf eine Relevanz von Sulfatid als autoimmunologisches Target hindeuten, was durch die Assoziation mit dem Vorkommen von Leitungsblöcken und im Vordergrund stehenden motorischen Ausfällen in unserer untersuchten Kohorte unterstrichen wird. Die höhere Prävalenz auch von GM1-IgM bei diesen Patienten lässt sich zudem gut dadurch erklären, dass GM1 primär auf der Oberfläche von Schwann'schen Zellen und membranaler Bestandteil der motorischen Nerven ist. Interessanterweise zeigen sich bei akuten Immunneuropathien, wie dem Guillain-Barré-Syndrom Antikörper vom IgG-Isotyp, bei den chronischen Immunneuropathien dagegen IgM-Antikörper. Dies könnte auf eine sekundäre Antikörper-Antwort hindeuten, basierend auf einer prädominierenden T-Zell vermittelten Demyelinisierung, die wir in den Vorarbeiten in aller Ausführlichkeit bereits besprochen haben.

## 4. Zusammenfassung

Bislang sind die zugrundeliegenden Pathomechanismen bei der CIDP wenig verstanden. In den vorgestellten Studien wurden mehrere Kandidatenantigene bei Patienten mit CIDP untersucht, die sowohl dem peripheren Myelin als auch der para- sowie nodalen Region eines Nerven entstammen. Es konnte mit Hilfe des Elispot-Assays gezeigt werden, dass CIDP-Patienten autoreaktive T-Zellantworten sowohl gegenüber peripher Myelin-spezifischen- als auch (para)nodalen Antigenen aufweisen. Dabei fanden sich in der Gruppe der atypischen CIDP insgesamt mehr autoreaktive T-Zell-Responsen verbunden mit erhöhten Frequenzen an T-Effektor-Memory-Zellen. In einer Subgruppenanalyse, in denen verschiedene periphere Myelinantigene als auch Antigene gegen die para- und nodale Nervenregion getestet wurden, zeigten sich Unterschiede in den einzelnen klinischen Subgruppen und der klassischen CIDP. Dabei zeigten Patienten mit sensibler und klassischer CIDP sowie MADSAM-Patienten die jeweils breiteste Autoimmunantwort gegenüber den getesteten Antigenen. Der Nachweis von Immunantworten gegenüber mindestens 2 der getesteten Antigene war prädiktiv für das Vorhandensein einer CIDP. In der ROC-Analyse zeigte sich eine gute Trennschärfe für das Vorhandensein einer MADSAM (NF186-Antwort) bzw. einer sensiblen CIDP (MBP und PO-Antwort). Autoreaktive T-Zell-Antworten gegenüber peripheren Myelinantigenen waren vor allem in *den* Patienten in größerer Frequenz nachweisbar, die gut auf eine immunmodulatorische Therapie ansprachen und sanken im Langzeitverlauf unter der Therapie mit IVIGs. Diese Myelin-spezifischen T-Zell-Antworten gingen mit einem veränderten T-Zell-Gedächtniskompartiment einher, welches insbesondere durch eine Reduktion von CD8+Effektor-Memory-Zellen gekennzeichnet war. Interessanterweise zeigten sich Unterschiede im Gedächtniszell-Kompartiment in der Subgruppenanalyse zwischen IVIG- und GS Langzeit-behandelten Patienten. Während Cortison-behandelte Patienten eine Reduktion durchweg aller CD4+ und tendenziell CD8+Subpopulationen aufwiesen, zeigten die IVIG-behandelten Langzeittherapie-Patienten eine spezifische Veränderung nur des CD8-Effektor-Kompartiments.

Neben den T-Zell-Antworten waren in CIDP-Patienten auch Gangliosid-Antikörper, insbesondere GM1, aSF und GD1b-IgM, mittels der neuen Methode des Line Immunoassays nachweisbar. Diese fanden sich vor allem in der Gruppe der nach EFNS-Kriterien sicheren CIDP/MMN und in Assoziation mit Leitungsblöcken und motorischen Ausfällen. Im Gegensatz

zu früheren Arbeiten zeigten sich in der hier vorgestellten Arbeit insgesamt höhere Prävalenzen dieser Antikörper von IgM-Typ, was auf eine sekundäre Antikörper-Antwort basierend auf eine prädominierende T-Zell vermittelte Demyelinisierung hindeuten könnte. Zusammenfassend erscheinen die vorgestellten Daten hinsichtlich autoantigen-spezifischer T-Zellantworten und Gangliosid-Antikörper ein vielversprechender Biomarker-Ansatz. Vor dem Hintergrund der Seltenheit der Erkrankung sind größer angelegte Studien vonnöten. Schwerpunkt dieser größer angelegter Kohortenstudien sollte daher die Validierung dieser Biomarker sein, um perspektivisch ihren Einsatz als diagnostische und prognostische Marker bei der CIDP und ihren Varianten zu ermöglichen.

## 5. Liste der einbezogenen eigenen Publikationen

**Klehmet J**, Goehler J, Ulm L, Kohler S, Meisel C, Meisel A, Harms H. Effective treatment with intravenous immunoglobulins reduces autoreactive T-cell response in patients with CIDP. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86:686-91. doi: 10.1136/jnnp-2014-307708.

**Klehmet J**, Staudt M, Ulm L, Unterwalder N, Meisel A, Meisel C. Circulating lymphocyte and T memory subsets in glucocorticosteroid versus IVIG treated patients with CIDP. *J Neuroimmunol*. 2015;283:17-22. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.03.023.

Staudt M, Diederich JM, Meisel C, Meisel A, **Klehmet J**. Differences in peripheral myelin antigen-specific T cell responses and T memory subsets in atypical versus typical CIDP. *BMC Neurol*. 2017;17:81. doi: 10.1186/s12883-017-0860-z.

Diederich JM; Staudt M, Meisel C, Hahn K; Meinel E; Meisel A; **Klehmet J**. Neurofascin and Compact Myelin Antigen-Specific T Cell Response Pattern in Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Subtypes. *Frontiers Neurology* 2018;9:171. doi: 10.3389/fneur.2018.00171.

**Klehmet J**, Marschenz S, Ruprecht K, Wunderlich B, Buettner T, Hiemann R, Roggenbuck D and Meisel A. Analysis of anti-ganglioside antibodies by a line immunoassay in patients with chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies (CIDP). *Clin Chem Lab Med*. 2018;56:919-26. doi: 10.1515/cclm-2017-0792.

## 6. Literatur

AAN Task Force. Research criteria for the diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP). *Neurology*. 1991;41:617–18.

Abdulahad WH, van der Geld YM, Stegeman CA, et al. Persistent expansion of CD4+ effector memory T cells in Wegener's granulomatosis. *Kidney Int*. 2006;70:938–47.

Adam AM, Atkinson PF, Hall SM, et al. Chronic experimental allergic neuritis in Lewis rats. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1989;15:249–64.

Allen JA and Lewis RA. CIDP diagnostic pitfalls and perception of treatment benefit. *Neurology* 2015;85:498-504.

Beppu M, Sawai S, Misawa S, et al. Serum cytokine and chemokine profiles in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol*. 2015; 279:7-10.

Cats E, van der Pol WL, Piepers S, et al. Correlates of outcome and response to IVIg in 88 patients with multifocal motor neuropathy. *Neurology* 2010;75:818–25.

Chiò A, Cocito D, Bottacchi E, et al.; PARCIDP. Idiopathic chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an epidemiological study in Italy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78:1349-53.

Cocito D, Paolasso I, Antonini G, et al.; Italian Network for CIDP Register. A nationwide retrospective analysis on the effect of immune therapies in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Eur J Neurol*. 2010;17:289-94.

Csurhes PA, Sullivan AA, Green K, et al. T cell reactivity to P0, P2, PMP-22, and myelin basic protein in patients with Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1431–9.

Dabby R, Weimer LH, Hays AP, Olarte M, Latov N. Antisulfatide antibodies in neuropathy: clinical and electrophysiologic correlates. *Neurology* 2000;54:1448–52.

Dalakas MC. Pathophysiology of autoimmune polyneuropathies. *Presse Med*. 2003; 42:181-92.

Delmont E, Manso C, Querol L, et al. Autoantibodies to nodal isoforms of neurofascin in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain* 2017;140:1851-58.

Devaux JJ, Odaka M, Yuki N. Nodal proteins are target antigens in Guillain-Barre syndrome. *J Peripher Nerv Syst*. 2012;17:62-71.

Diederich JM, Staudt M, Meisel C, et al. Neurofascin and Compact Myelin Antigen-Specific T Cell Response Pattern in Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Subtypes. *Front Neurol*. 2018; 9:171.

Doneddu PE, Cocito D, Manganelli F, et al. Atypical CIDP: diagnostic criteria, progression and treatment response. Data from the Italian CIDP Database. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90:125-32.

Eftimov F, Vermeulen M, van Doorn PA, Brusse E, van Schaik IN; PREDICT. Long-term remission of CIDP after pulsed dexamethasone or short-term prednisolone treatment. *Neurology* 2012;78:1079–84.

Eftimov F and van Schaik I. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: update on clinical features, phenotypes and treatment options. *Curr Opin Neurol*. 2013; 26: 496-502.

Haegeler KF, Stueckle CA, Malin JP, et al. Increase of CD8+ T-effector memory cells in peripheral blood of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis compared to healthy controls. *J Neuroimmunol*. 2007;183:168–74.

Hahn AF, Bolton CF, Pillay N, et al. Plasma-exchange therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. A double-blind, sham-controlled, crossover study. *Brain* 1996;119:1055–66.

Harbo T, Andersen H, Jakobsen J. Length-dependent weakness and electrophysiological signs of secondary axonal loss in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Muscle Nerve*. 2008;38:1036-45.

Hartung HP, Reiners K, Schmidt B, et al. Serum interleukin-2 concentrations in Guillain-Barre syndrome and chronic idiopathic demyelinating polyradiculoneuropathy: comparison with other neurological diseases of presumed immunopathogenesis. *Ann Neurol*. 1991;30: 48-53.

Harris W and Newcomb WD. A case of relapsing interstitial hypertrophic polyneuritis. *Brain* 1929;52:108–16.

Hughes RA, Bensa S, Willison H, et al. Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) Group. Randomized controlled trial of intravenous immunoglobulin versus oral prednisolone in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol*. 2001;50:195-201.

Hughes RA, Allen D, Makowska A, et al. Pathogenesis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. 2006;11:30–46.

Hughes RA, Donofrio P, Brill V, et al. Intravenous immune globulin (10% caprylate-chromatography purified) for the treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (ICE study): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Neurol*. 2008;7:136–44.

Katz JS, Saperstein DS, Gronseth G, Amato AA, Barohn RJ. Distal acquired demyelinating symmetric neuropathy. *Neurology* 2000;54:615–20.

Keller CW, Quast I, Dalakas MC, Lünemann JD. IVIG efficacy in CIDP patients is not associated with terminal complement inhibition. *J Neuroimmunol.* 2019;330:23-27.

Khalili-Shirazi A, Atkinson P, Gregson N, Hughes RA. Antibody responses to P0 and P2 myelin proteins in Guillain-Barre syndrome and chronic idiopathic demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neuroimmunol.* 1993;46:245-51.

Klehmet J, Goehler J, Ulm L, et al. Effective treatment with intravenous immunoglobulins reduces autoreactive T-cell response in patients with CIDP. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015; 86:686-91.

Klehmet J, Staudt M, Ulm L, Unterwalder N, Meisel A, Meisel C. Circulating lymphocyte and T memory subsets in glucocorticosteroid versus IVIG treated patients with CIDP. *J Neuroimmunol.* 2015; 283:17-22.

Klehmet J, Märtsch S, Ruprecht K, et al. Analysis of anti-ganglioside antibodies by a line immunoassay in patients with chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies (CIDP). *Clin Chem Lab Med.* 2018; 56:919-26.

Kieseier BC, Mathey EK, Sommer C, Hartung HP. Immune-mediated neuropathies. *Nat Rev Dis Primers.* 2018; 11:1-23.

Koski CL, Baumgarten M, Magder LS, et al. Derivation and validation of diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci.* 2009; 277:1–8.

Kuwabara S, Misawa S, Mori M, et al. Long term prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a five year follow up of 38 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77:66–70.

Lanzavecchia A and Sallusto F. Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors, and memory cells. *Science.* 2000;290:92-7.

Latov N. Diagnosis and treatment of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Nat Rev Neurol* 2014;10:435-46.

Lehmann HC, Burke D, Kuwabara S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: update on diagnosis, immunopathogenesis and treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2019;90:981-987.

Lehmann PV and Zhang W. Unique strengths of ELISPOT for T cell diagnostics. *Methods Mol Biol.* 2012;792:3-23.

Lunn MPT, Manji H, Choudhary PP, Hughes RAC, Thomas PK. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a prevalence study in south east England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 677-80.

Mahdi-Rogers M and RA Hughes. Epidemiology of chronic inflammatory neuropathies in southeast England. *Eur J Neurol*. 2014;21:28-33.

Matteucci E, Ghimenti M, Di Beo S, Giampietro O. Altered proportions of naive, central memory and terminally differentiated central memory subsets among CD4+ and CD8 + T cells expressing CD26 in patients with type 1 diabetes. *J Clin Immunol*. 2011;31:977-84.

Maurer M, Toyka KV, and Gold R. Immune mechanisms in acquired demyelinating neuropathies: lessons from animal models. *Neuromuscul Disord*. 2002;12:405-14.

Muraro PA, Pette M, Bielekova B, McFarland HF, Martin R. Human autoreactive CD4+T cells from naive CD45RA+ and memory CD45RO+subsets differ with respect to epitope specificity and functional antigen avidity. *J Immunol*. 2000;164:5474–81.

Nagamatsu M, Terao S, Miso K, et al. Axonal and perikaryal involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1999; 66: 727–33.

Nave KA, Werner HB. Myelination of the nervous system: mechanisms and functions. *Annu Rev Cell Biol*. 2014;30:503–33.

Ng JK, Malotka J, Kawakami N, et al. Neurofascin as a target for autoantibodies in peripheral neuropathies. *Neurology* 2012;79:2241-48.

Nobile-Orazio E, Giannotta C, Briani C. Anti-ganglioside complex IgM antibodies in multifocal motor neuropathy and chronic immune-mediated neuropathies. *J Neuroimmunol*. 2010;219:119-22.

Nobile-Orazio E, Cocito D, Jann S, et al.; IMC Trial Group. Intravenous immunoglobulin versus intravenous methylprednisolone for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol*. 2012;11:493–502.

Nobile-Orazio E. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy and variants: where we are and where we should go. *J Peripher Nerv Syst*. 2014;19:2–13.

Nobile-Orazio E, Giannotta C, Musset L, Messina P, Leger JM. Sensitivity and predictive value of anti-GM1/galactocerebroside IgM antibodies in multifocal motor neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85:754–8.

Ogata H, Yamasaki R, Hiwatashi A, et al. Characterization of IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive polyneuropathy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015;2:960-71.

Oh SJ, LaGanke C, Powers R, Wolfe GI, Quinton RA, Burns DK. Multifocal motor sensory demyelinating neuropathy: inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Neurology*. 2005; 65: 1639–42.

Palavicini JP, Wang C, Chen L, et al. Novel molecular insights into the critical role of sulfatide in myelin maintenance/function. *J Neurochem*. 2016;139:40–54.

Perricone R, Perricone C, De Carolis C, Shoenfeld Y. NK cells in autoimmunity: A two-edged weapon of the immune system. *Autoimmun. Rev.* 2008;7:384–90.

Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-Garcia R, et al. Neurofascin IgG4 antibodies in CIDP associate with disabling tremor and poor response to IVIg. *Neurology* 2014;82:879-86.

Rajabally YA, Simpson BS, Beri S, Bankart J, Gosalakkal JA. Epidemiologic variability of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with different diagnostic criteria: study of a UK population. *Muscle Nerve* 2009;39:432-8.

Ranieri E, Popescu I, Gigante M. CTL ELISPOT assay. *Methods Mol Biol.* 2014;1186:75-86.

Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999;401:708-12.

Sanvito L, Makowska A, Mahdi-Rogers M, et al. Humoral and cellular immune responses to myelin protein peptides in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:333-38.

Sanvito L, Makowska A, Gregson N, et al. Circulating subsets and CD4(+)CD25(+) regulatory T cell function in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Autoimmunity* 2009;42:667–77.

Saperstein DS, Katz JS, Amato AA, Barohn RJ. Clinical spectrum of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Muscle Nerve* 2004;24:311–24.

Sen Y, Chunsong H, Baojun H, et al. Aberration of CCR7 CD8 memory T cells from patients with systemic lupus erythematosus: an inducer of T helper type 2 bias of CD4 T cells. *Immunology* 2004;112:274–89.

Simmons Z, Albers JW, Bromberg MB, Feldman EL. Long-term follow-up of patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy, without and with monoclonal gammopathy. *Brain* 1995;118:359-68.

Staudt M, Diederich JM, Meisel C, Meisel A, Klehmet J. Differences in peripheral myelin antigen-specific T cell responses and T memory subsets in atypical versus typical CIDP. *BMC Neurol.* 2017;17:81.

Van den Berg LH, Mollee I, Wokke JH, Logtenberg T. Increased frequencies of HPRT mutant T lymphocytes in patients with Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: further evidence for a role of T cells in the etiopathogenesis of peripheral demyelinating diseases. *J Neuroimmunol.* 1995;58:37–42.

Van den Bergh PY, Hadden RD, Bouche P, et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society: first revision. *Eur J Neurol.* 2010;17:356–63.

Viala K, Maisonobe T, Stojkovic T, et al. A current view of the diagnosis, clinical variants, response to treatment and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst.* 2010;15:50–6.

Yamane H and Paul WE. Early signaling events that underlie fate decisions of naïve CD4(+) T cells toward distinct T-helper cell subsets. *Immunol. Rev.* 2013; 252:12–23.

Yan WX, Archelos JJ, Hartung HP, Pollard JD. P0 protein is a target antigen in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Ann Neurol.* 2001; 50:286-92.

Zhu J, Link H, Mix E, et al. Th1-like cell responses to peripheral nerve myelin components over the course of experimental allergic neuritis in Lewis rats. *Acta Neurol Scand* 1994;90:19–25.

## Danksagung

Mein Dank gilt in erster Linie dem Leiter meiner Arbeitsgruppe Prof. Andreas Meisel, der mir durch die Übertragung der Leitung der CIDP-Sprechstunde die Möglichkeit zur experimentellen und klinischen Forschung ermöglichte und mich durch großzügige Förderung, Vertrauen, wissenschaftliche und sonstige anregende Diskussionen geprägt hat und mich immer auch in der Frage der Vereinbarkeit von Familie und Beruf unterstützt hat.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Matthias Endres als Leiter der Neurologischen Klinik der Charité für die Möglichkeit, klinische Tätigkeit und wissenschaftliches Arbeiten fruchtbar miteinander verbinden zu können.

Insbesondere danke ich den Mitarbeiter/innen der AG Meisel sowie den Schwestern der Hochschulambulanz für die wertvolle Zusammenarbeit.

Ich danke allen, die mich in all meinen Tätigkeiten in Forschung, Lehre und Klinik unterstützt haben.

Vor allem aber danke ich meiner Familie für ihre Unterstützung, ihre Geduld und für ihre Liebe.

## Erklärung

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- Weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.
- Die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- Mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, d. 12.3.2020

Dr. med. Juliane Klehmet