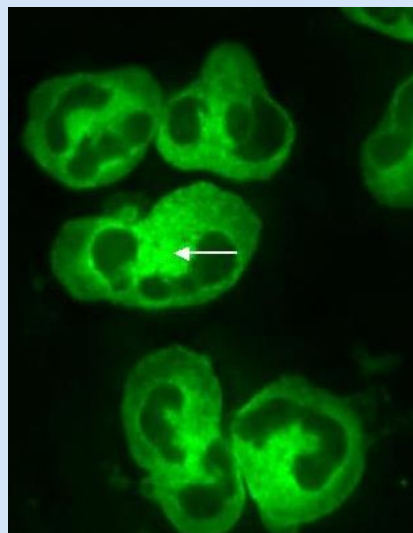




## Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper

<b>Akronym</b>	ANCA, ACPA
<b>Synonyma</b>	anti-cytoplasmatic antibodies (ACPA)
<b>Indikationen</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ Verdacht auf Morbus Wegener, mikroskopische Polyangiitis, Churg-Strauss-Syndrom, nekrotisierende rapid progressive Glomerulonephritis.</li><li>▶ Die Untersuchung sollte nicht als allgemeiner Screeningtest zur Diagnose oder zum Ausschluss einer idiopathischen systemischen Vaskulitis angesehen werden. Die Trefferquote hängt wesentlich von dem untersuchten Patientenkollektiv ab. Sie ist am höchsten (10 - 12 %) in Verbindung mit den entsprechenden klinischen Symptomen bei nephrologischer und rheumatologischer Klientel, gering bei Patienten der anderen internistischen Fachrichtungen, sehr gering bei Patienten neurologischer und anderer Disziplinen.</li></ul>
<b>Siehe auch</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ <a href="#">Systemische Vaskulitiden</a> (Übersicht)</li><li>▶ <a href="#">Autoantikörper bei Erkrankungen der Leber</a></li><li>▶ <a href="#">Autoantikörper bei Glomerulopathien</a></li></ul>
<b>Immunpathologie</b>	Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper (ANCA) wurden erstmals bei Patienten mit nekrotisierender rapid progressiver pauciimmuner Glomerulonephritis, später auch bei Morbus Wegener und anderen systemischen Vaskulitiden nachgewiesen. Sie zeigten im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) an ethanolfixierten Granulozyten eine charakteristische granuläre Fluoreszenz des Zytoplasmas (zuerst ACPA, anti-cytoplasma antibodies genannt), die im Bereich der Kerneinsenkung hervorsteht (intralobuläre Akzentuierung). Diese Antikörper wurden später mit C-ANCA (anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Antikörper mit zytoplasmatischer (C-) Fluoreszenz) bezeichnet (Abbildung 1). In der Regel richten sie sich gegen die in den azurophilen $\alpha$ -Granula gelegene Proteinase 3 (PR3, Myeloblastin). In der internationalen Nomenklatur wird hierfür der Begriff PR3-ANCA verwendet.



**Abbildung 1**  
**Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper bei Morbus Wegener**

Granuläre, zytoplasmatische Fluoreszenz neutrophiler Granulozyten. Die Antikörper reagieren mit der in den azurophilen Granula gelegenen Proteinase 3 (PR3-ANCA). Charakteristisch ist die zentrolobuläre Betonung der Fluoreszenz (Pfeil) an den Einkerbungen der segmentierten Kerne.

Methode: IIFT; zytozentrifugierte, methanolfixierte humane Granulozyten.

IIFT-Typ: C-ANCA

Spezifität: PR3-ANCA

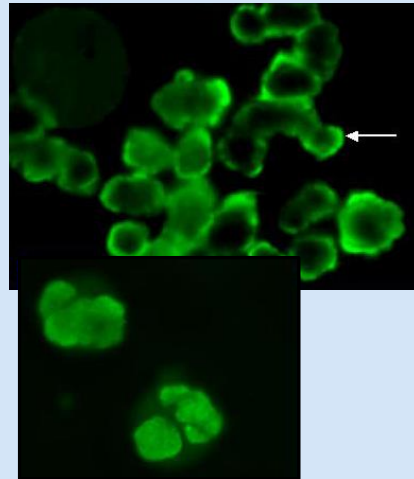
Vergrößerung: Objektiv 40-fach

Eine weitere Gruppe Granulozyten-spezifischer Antikörper wurde ebenfalls bei systemischen Vaskulitiden gefunden. Sie führen an ethanolfixierten Granulozyten zu einer perinukleären Fluoreszenz, die sich bei hochtitrigen Antikörpern über den gesamten Kern erstreckt (nukleäre Extension), der dann wachstümlich homogen glänzend fluoresziert. Da die Seren keine Zellkernautoantikörper enthielten (negativer ANA-IIFT mit HEP-2-Zellen) und da sich die Fluoreszenz



## Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper

bei höheren Verdünnungen als perinukleär darstellte, wurden diese Antikörper P-ANCA (perinukleäre anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper) genannt (Abbildung 2), wobei die Betonung weiterhin auf Zytoplasma liegt, denn in Wirklichkeit reagieren diese P-ANCA nicht mit Kernantigenen, sondern mit Proteinen im Zytoplasma.



**Abbildung 2**

### **Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper bei Polyarteriitis nodosa**

Perinukleäre, zytoplasmatische Fluoreszenz neutrophiler Granulozyten. Die perinukleäre (Pfeil), in der Aufsicht auch nukleäre Fluoreszenz des zytoplasmatischen Antigens (Myeloperoxidase) ist die Folge eines Fixierungsartefaktes. Die Antikörper reagieren mit der in den azurophilen Granula gelegenen Myeloperoxidase (MPO-ANCA).

Methode: IIFT; zytozentrifugierte, methanolfixierte humane Granulozyten.

IIFT-Typ: P-ANCA

Spezifität: MPO-ANCA

Vergrößerung: Objektiv 40-fach

Die P-ANCA-Fluoreszenz beruht auf einem Artefakt. Bei der Ethanolfixierung werden die Membranen der antigenhaltigen spezifischen, azurophilen oder sekretorischen Granula zerstört und die kationischen Antigene diffundieren zu dem negativ geladenen Zellkern. Bei formaldehydfixierten Granulozyten tritt dieser Artefakt wegen der fixativen Quervernetzung von Proteinen nicht auf, die P-ANCA zeigen hier ein zytoplasmatisches Fluoreszenzmuster. Die bei der nekrotisierenden rapid progressiven pauciimmunen Glomerulonephritis und den idiopathischen Vasculitiden vorkommenden P-ANCA richten sich in der Regel gegen die in den azurophilen  $\alpha$ -Granula gelegene Myeloperoxidase (MPO, MPO-ANCA). Man findet sie vorwiegend bei der mikroskopischen Polyangiitis, dem Churg-Strauss-Syndrom, selten bei Morbus Wegener.

Bei anderen Erkrankungen auftretende P-ANCA richten sich in der Regel gegen andere Granulozytenantigene wie Kathepsin G, Lactoferrin, Lysozym, Elastase, Defensin,  $\alpha$ -Enolase, Katalase,  $\beta$ -Glukuronidase, Azurocidin, BPI (bactericidal permeability increasing protein). Es handelt sich auch hierbei um ursprünglich im Zytoplasma der Granulozyten gelegene Antigene, die im Gefolge der Ethanolfixierung eine perinukleäre Lage annehmen, sodass ihre Zuordnung zu den P-ANCA (perinukleäre Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper) gerechtfertigt ist. Da sie mit einer Vielzahl verschiedener Erkrankungen assoziiert sind, besitzen sie keine wesentliche diagnostische Relevanz. Ob sie pathogenetisch von Bedeutung sind, ist unbekannt. Es handelt sich möglicherweise um die Folgen von Entzündungsprozessen, da sie nach Abklingen der Entzündung auch wieder verschwinden können, ähnlich wie anti-nukleäre Antikörper bei Virusinfektionen oder Phospholipidantikörper nach cerebrovaskulären Insulten und Myokardinfarkten.

Die Begriffe C-ANCA und P-ANCA definieren nicht die molekulare Spezifität eines Antigens, sondern ein an ethanolfixierten Granulozyten ausgelöstes Fluoreszenzmuster. Eine Zytoplasmafluoreszenz der Granulozyten kann nicht nur durch PR3-ANCA hervorgerufen werden, sondern auch durch Antikörper gegen andere intrazelluläre Antigene wie z. B. Endosomen, Lysosomen, Zytoskelettantigene, Mitochondrien, tRNA-Synthetasen, Signalerkennungspartikel sowie durch Antikörper gegen bisher noch unbekannte Antigene. Es wurde daher der Begriff **C-**



## Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper

**ANCA (atypisch)** für solche Fluoreszenzmuster vorgeschlagen, die sich durch eine kontrastarme, matte Fluoreszenz des Zytoplasmas ohne intralobuläre Akzentuierung ausweisen. Die in solchen Seren nachgewiesenen Antikörper richteten sich zum Teil zwar auch gegen bekannte Antigene wie BPI, MPO, Kathepsin G, vielfach aber gegen unbekannte Antigene. Die Unterscheidung solcher Fluoreszenzmuster hängt nicht nur von der Erfahrung des Untersuchers, sondern auch entscheidend von den jeweiligen Testmaterialien und -bedingungen ab. Es sollte daher grundsätzlich bei jeder zytoplasmatischen Fluoreszenz der Granulozyten eine Untersuchung auf PR3-ANCA mit einer antigenspezifischen Methode erfolgen.

Bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa), primär sklerosierender Cholangitis und autoimmuner Hepatitis ließen sich in einem hohen Prozentsatz Antikörper nachweisen, die im indirekten Immunfluoreszenztest an ethanolfixierten Granulozyten ein perinukleäres (P-ANCA) Fluoreszenzmuster zeigten. Da sie zumeist nicht gegen die MPO gerichtet waren und da sich in vielen Fällen ihre Antigenspezifität nicht ermitteln ließ, wurden sie als **atypische P-ANCA, atypische ANCA** oder als **X-ANCA** bezeichnet. Zwischenzeitlich konnte gezeigt werden, dass speziell die bei diesen Krankheiten auftretenden sog. atypischen P-ANCA nicht mit zytoplasmatischen, sondern mit nukleären Antigenen reagieren, die offensichtlich nur oder vermehrt in myeloiden Zellen exprimiert werden. Die molekulare Spezifität der Antigene ist noch nicht bekannt. Diese Autoantikörper werden unter dem korrekten Begriff Anti-Neutrophilen-Nukleus-Autoantikörper (siehe dort) geführt.

Unter dem Begriff atypische ANCA wurden auch Fluoreszenzmuster mit einer Mischung aus zytoplasmatischer und perinukleärer Fluoreszenz unterschiedlicher Ausprägung beschrieben, die bei Patienten mit entzündlichen rheumatischen Erkrankungen, nach Medikamenteneinnahme (Propylthiourazil u. a.) oder auch bei entzündlichen Darmerkrankungen auftraten.

Da Zellkern-Autoantikörper (ANA) gelegentlich ein von P-ANCA nicht zu unterscheidendes Fluoreszenzmuster ergeben, müssen zur Differenzierung von P-ANCA und spezifischen Zellkernantikörpern (ANA oder granulozytenspezifische (GS-) ANA) die P-ANCA positiven Seren auf HEp-2-Zellen nachuntersucht werden. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, sollte der IIFT nach den Empfehlungen des 1. Internationalen ANCA-Workshops (Kopenhagen 1988) durchgeführt werden. Auch eine Untersuchung auf MPO-ANCA empfiehlt sich bei jedem positiven P-ANCA Befund.

Zur Absicherung der im IIFT erhaltenen Ergebnisse und zur Erhöhung der Sensitivität und Spezifität empfehlen internationale Konsensusstudien die simultane Bestimmung von PR3-ANCA und MPO-ANCA mit einer antigenspezifischen Methode (Elisa, RIA, RIP). Bei den idiopathischen Vaskulitiden besteht eine gute Korrelation zwischen den Ergebnissen des Immunfluoreszenztests und den anti-MPO- oder anti-PR3-Elisas in Hinblick auf positive oder negative Resultate, schlecht hingegen ist die Korrelation der in den jeweiligen Testen ermittelten Antikörperkonzentrationen. Etwa 80 bis 90 % der ANCA-IIFT-positiven Proben sind auch im Elisa für PR3- oder MPO-ANCA positiv und etwa 90 % der im Elisa positiven Proben werden durch den IIFT als positiv bestätigt. Die ergänzende Bestimmung der Antikörperspezifitäten ist auch deswegen von Bedeutung, da MPO-ANCA ein C-ANCA-Fluoreszenzmuster hervorrufen und PR3-ANCA sich im IIFT als P-ANCA manifestieren können. Die meisten der IIFT-ANCA-positiven Proben stammen allerdings nicht von Patienten mit idiopathischen Vaskulitiden. Für andere Erkrankungen gelten die für Vaskulitiden beschriebenen Assoziationen nicht.

PR3-ANCA und MPO-ANCA scheinen auch an der Pathogenese der systemischen Vaskulitiden beteiligt zu sein. PR3 und MPO sind im Zytoplasma gelegen für Antikörper nicht akzessibel. Nach Stimulierung der Leukozyten durch proinflammatorische Zytokine wie IL1- $\beta$  und TNF- $\alpha$  werden PR3 und MPO aus den azurophilen Granula in die Plasmamembran verlagert, wo sie mit den Antikörpern reagieren können. Durch die Bindung der Antikörper werden entzündliche



## Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper

Prozesse in den Granulozyten wie respiratorischer Burst, Degranulierung mit Freisetzung von Mediatoren und Zytokinen in die Mikroumgebung ausgelöst. In niederen Konzentrationen können anti-PR3 Granulozyten gegenüber weiteren Aktivatoren sensibilisieren. Diese Prozesse können zur Lyse von Endothelzellen, zur Schädigung der Gefäßwand und zur fibrinoiden Nekrose führen. PR3, MPO, Elastase und Lactoferrin wurden in fibrinoiden Nekrosen ANCA-assoziiierter Vaskulitiden nachgewiesen (siehe [MPO-ANCA](#), [PR3-ANCA](#)).

### Vorkommen

Die Diagnose systemischer Vaskulitiden basiert auf der klinischen Symptomatik, unterstützt von bildgebenden und labormedizinischen Untersuchungen sowie der als Goldstandard angesehenen histopathologischen Untersuchung von Gefäßbiopsien. Zu den C-ANCA-assoziierten Vaskulitiden zählen in erster Linie der Morbus Wegener (mit Symptomen einer Glomerulonephritis, insbesondere rapid progressiven Formen, Lungenhämorrhagien und pulmonalem Syndrom, systemischen kutanen Vaskulitiden, multiplen nodulären Lungeninfiltraten, chronisch destruierenden Erkrankungen der oberen Luftwege, chronischer Sinusitis, chronischer Otitis, subglottealer Trachealstenose, Mononeuritis multiplex, peripheren Neuropathien, Vermehrung des retroorbitalen Gewebes), die mikroskopische Polyangiitis, das Churg-Strauss-Syndrom und die (nicht mit Immunglobulin- / Immunkomplexablagerungen einhergehende) nekrotisierende rapid progressive pauciimmune Glomerulonephritis.

C-ANCA mit der granulären intralobulär akzentuierten Zytoplasmafluoreszenz, zumeist hervorgerufen durch Antikörper gegen die Proteinase 3 (PR3-ANCA) sind charakteristisch für den Morbus Wegener. Sie gelten bei entsprechender klinischer Symptomatik als Markerantikörper für dieses Krankheitsbild. Ihre Spezifität liegt bei 90 %. Bei gleichzeitigem Nachweis von PR3-ANCA erhöht sich die Spezifität auf > 95 %. Die Sensitivität ist vom Stadium und der Aktivität der Erkrankung abhängig. In der inaktiven Initialphase lassen sich C-ANCA (PR3-ANCA) bei 50 %, in der aktiven Generalisationsphase dagegen bei bis zu 85 % der Patienten nachweisen. C-ANCA finden sich auch beim Tolosa-Hunt-Syndrom (schmerzhafte Ophthalmoplegie aufgrund granulomatöser Läsionen des Sinus cavernosus), seltener bei der mikroskopischen Polyangiitis (bis 40 %), dem Churg-Strauss-Syndrom (bis 35%) oder der nekrotisierenden rapid progressiven pauciimmunen Glomerulonephritis (bis 40 %). Die C-ANCA-Fluoreszenz korreliert nicht zwangsläufig mit der Anwesenheit von PR3-ANCA. Bei etwa 5 - 10 % der Patienten mit Morbus Wegener finden sich C-ANCA nicht aber PR3-ANCA und umgekehrt.

Die klassische Panarteriitis nodosa (CPAN) geht in etwa 20 % der Fälle mit ANCA einher, aber nur bei einem Drittel davon finden sich PR3-ANCA. C-ANCA wurden auch bei Patienten mit invasiver Amoebiasis (75 % der Fälle waren PR3-ANCA positiv) beschrieben. In Serien von Patienten mit Kollagenosen (systemischer Lupus erythematoses, Sjögren-Syndrom, etc.) finden sich in der Regel keine C-ANCA (PR3-ANCA).

P-ANCA mit anti-Myeloperoxidase-Spezifität (MPO-ANCA) werden bei der mikroskopischen Polyangiitis (bis 50 %) und der idiopathischen, rapid progressiven Glomerulonephritis (bis 50 %) angetroffen. MPO-ANCA treten bei Morbus Wegener (10 %) selten, häufig dagegen beim Churg-Strauss-Syndrom (bis 35 %) auf. Sie finden sich nicht beim Kawasaki-Syndrom, der Takayasu-Arteriitis, der Riesenzell-Arteriitis und der Purpura Schönlein-Henoch (hier IgA-ANCA bei 11 von 14 Patienten beschrieben). MPO-ANCA wurden auch im Zusammenhang mit Glomerulonephritiden bei Hydralazin- und Propylthiouracyl-Gabe und nach Inhalation von Silicastauben beschrieben.

Nicht selten finden sich C- und P-ANCA (PR3-ANCA < 5 %, MPO-ANCA bis 30 %) auch bei dem durch Antikörper gegen die Glomerulus-Basalmembran ausgelösten Goodpasture-Syndrom.



## Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Autoantikörper

### Methode

IIFT, siehe Abbildung 1 und 2

Der IIFT erfordert wegen des hohen Anteils falsch positiver Resultate mit unzureichend charakterisierbaren Fluoreszenzmustern häufig umfangreiche Nachuntersuchungen. Wir empfehlen daher grundsätzlich für die labormedizinische Beantwortung der Frage nach einer systemischen Vaskulitis sowie zur Überwachung der Krankheitsaktivität nur die beiden im folgenden genannten antigenspezifischen Tests anzufordern:

- ▶ [Proteinase 3-Autoantikörper](#)
- ▶ [Myeloperoxidase-Autoantikörper](#)

Der IIFT ist aufgrund der sehr subjektiven Interpretation von sog. atypischen Fluoreszenzmustern (sog. X-ANCA, atypische ANCA, atypische P-ANCA) nach unserem Erachten auch nicht für die Diagnostik bei entzündlichen Darmerkrankungen geeignet.