



TRIB2-Autoantikörper (Tribbles homolog 2)

Indikationen

- ▶ Narkolepsie mit Kataplexie (klassische Narkolepsie)
- ▶ Autoimmune Uveitis

Siehe auch

- ▶ [Autoantikörper bei zentralen Neuropathien \(Narkolepsie\)](#)
- ▶ [Laborinformation: Narkolepsie - Autoantikörper gegen Tribbles Homolog 2 \(anti-TRIB2\)](#)

Autoantikörper gegen Tribbles homolog 2 (TRIB2) wurden erstmals bei Patienten mit autoimmuner Uveitis bei Untersuchungen einer aus humanem Augengewebe gewonnenen cDNA mittels Phagen-Display nachgewiesen (Zhang et al. 2005). Wie spätere Untersuchungen zeigten, treten sie gehäuft auch bei Patienten mit Narkolepsie und Kataplexie auf (Tabelle 1).

Antigen

Tribbles homolog 2 (M_r 38,8 kDa; Chromosom 2p4.3) ist eines der drei Mitglieder der Tribbles-Familie in der Superfamilie der Proteinkinasen. Seine Aminosäuresequenz ist derjenigen der Serin-Threonin-Kinasen ähnlich. Die Tribbles homolog-Proteine greifen modulierend in zahlreiche physiologische und pathologische Prozesse der Signaltransduktion ein. Sie sind u. a. an der Induktion der Apoptose beteiligt. TRIB2 gilt als starkes Onkogen, das bei bestimmten Subgruppen humaner akuter myeloischer Leukämien (AML) vermehrt exprimiert wird (Hannon et al. 2012), es erlangt onkogene Eigenschaften durch die Inaktivierung des Transkriptionsfaktors C/EBP α (CCAAT/enhancer-binding protein α) und kann bei Mäusen myelogene Leukämien induzieren (Lohan und Keeshan 2013). TRIB2 wird unter anderem auch verstärkt in den Hypocretin (Orexin) sezernierenden Neuronen (HCRT-Neuronen) in den dorsomedialen, perifornicalen und lateralen Kernen des Hypothalamus exprimiert (Cvetkovic-Lopes et al. 2010).

Tabelle 1 Prävalenz von Autoantikörpern gegen Tribbles homolog 2 bei Patienten mit Narkolepsie und autoimmuner Uveitis sowie bei Kontrollgruppen.

Krankheitsbilder	n	anti-TRIB2 [%]	Autoren
Narkolepsie mit Kataplexie * ¹	119	14,3 * ²	Cvetkovic-Lopes et al. 2010
Narkolepsie ohne Kataplexie	24	12,5 * ²	
Idiopathische Hypersomnie	23	0,0	
Multiple Sklerose	16	0,0	
Entzündliche Neuropathien	9	11,1	
Gesunde Kontrollen	42	4,8	
Narkolepsie mit Kataplexie * ¹	90	21,1 * ³	Kawashima et al. 2010
Narkolepsie ohne Kataplexie	57	3,5	
Gesunde Kontrollen	156	4,5	
Narkolepsie mit Kataplexie * ¹	88	26,1 * ³	Toyoda et al. 2010
Narkolepsie ohne Kataplexie	18	5,6	
Idiopathische Hypersomnie	11	0,0	
Gesunde Kontrollen	87	0,0	
Autoimmune Uveitis	10	30,0	Zhang et al. 2005

n Anzahl untersuchten Personen

*¹ HLA-DQB1*0602 positive Patienten

*² Die prozentualen Anteile antikörperpositiver Patienten beziehen sich auf Extinktionen (Elisa) von ≥ 2 Standardabweichungen (SD) der gesunden Kontrollen. Bei einem Grenzwert von ≥ 1 SD der gesunden Kontrollen waren 39 % der Patienten mit Narkolepsie (56 von insgesamt 143) als positiv zu bewerten gewesen.

*³ Cut off ≥ 2 SD über dem Mittel gesunder Kontrollen.



TRIB2-Autoantikörper (Tribbles homolog 2)

Prävalenz

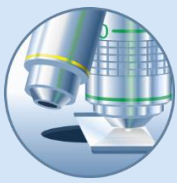
Autoantikörper gegen TRIB2 wurden erstmals bei Patienten mit autoimmuner Uveitis (Zhang et al. 2005) und später von drei Arbeitsgruppen bei Patienten mit Narkolepsie und Kataplexie nachgewiesen (Tabelle 1). Bei der Narkolepsie findet sich anti-TRIB2 vor allem in den frühen Krankheitsphasen. Bei Patienten in der Frühphase (< 2,3 Jahre) der Erkrankung ist die Wahrscheinlichkeit für die Anwesenheit von anti-TRIB2 7,4-mal größer als im späteren Krankheitsverlauf (Cvetkovic-Lopes et al. 2010; Kawashima et al. 2010). Legte man diesen zeitorientierten Ansatz der Auswertung zugrunde, fanden sich anti-TIB2 bei 41 % der DQB1*0602 positiven Patienten im frühen Krankheitsverlauf gegenüber 4 - 8 % bei den anderen untersuchten Patientengruppen (Kawashima et al. 2010). Innerhalb der ersten zwei Jahre nach Beginn der Erkrankung nehmen die Antikörpertiter deutlich ab, Antikörper in niederen Titern (≥ 1 SD der mittleren, in Elisa bei gesunden Kontrollen gemessenen Extinktionen) ließen sich jedoch noch bis zu 20 Jahre nach Krankheitsbeginn bei einigen Patienten nachweisen (Cvetkovic-Lopes et al. 2010). Uneinheitlich sind die Angaben hinsichtlich der Antikörperprävalenz bei Patienten mit und ohne Kataplexie (Tabelle 1). Es wurden Korrelationen zwischen dem Antikörpertiter und der Frequenz der kataplektischen Attacken sowie zwischen dem Schweregrad der Narkolepsie beobachtet (Cvetkovic-Lopes et al. 2010) sowie auch zwischen der Anwesenheit von anti-TRIB2 und der Manifestation der Kataplexie. Keine Korrelationen bestanden zwischen dem Hypocretin-Spiegel im Liquor und der Antikörperprävalenz (Kawashima et al. 2010).

Immunpathologie

Die klassische Narkolepsie (Narkolepsie mit Kataplexie) ist durch eine außergewöhnliche Tagesschläfrigkeit mit Kataplexien, ausgelöst durch emotionale Gemütsregungen und schnellem Einsetzen der REM-Schlafphase gekennzeichnet. Ihre Prävalenz beträgt etwa $2,5 - 5 \times 10^{-4}$ (Longstreth et al. 2007). Im Verlauf der Erkrankung kommt es zu einem fast vollständigen Verlust (95 %) der Hypocretin-sezernierenden Neuronen (HCRT-Neuronen) in den dorsomedialen, perifornicalen und lateralen Kernen des Hypothalamus (Peyron et al. 2000; Thannickal et al. 2000), deren Ursache in Autoimmunprozessen vermutet wurde (Übersicht: Overeem et al. 2009). Die enge Assoziation der Erkrankung mit dem HLA-Allel DQB1*0602 bei über 95 % der befallenen Individuen (Mignot et al. 2001), die Assoziation mit Polymorphismen des T-Zellrezeptor α (Hallmayer et al. 2009) und der Nachweis von Autoantikörpern gegen das ebenfalls in HCRT-Neuronen gebildete TRIB2 haben diesen Überlegungen neuen Auftrieb gegeben. Die Ursache der Entstehung von Antikörpern gegen TRIB2 ist bisher nicht geklärt, unbekannt ist ferner ob sie, infolge eines noch unbekanntes primären Autoimmunprozesses entstanden, direkt HCRT-Neuronen schädigen können, oder ob sie im Gefolge einer anderen entzündlichen Noxe als Beiprodukt gebildet, einen chronischen Entzündungsprozess unterhalten oder ob sie ein nur zufälliges Epiphänomen bei diesen Patienten darstellen. Interessant sind in diesem Zusammenhang Untersuchungen an Mäusen, die nach intraventrikulärer Injektion anti-TRIB2 positiver Patientenserum nicht nur morphologische Läsionen im lateralen Hypothalamus (Verlust NeuN, Synaptophysin und Hypocretin-sezernierender Neuronen) sondern auch Narkolepsie-ähnliche Symptome entwickelten (Katzav et al. 2013). Diese experimentellen Untersuchungen sowie die vereinzelt beschriebene Besserung der Symptome nach IVIG-Therapie (Cvetkovic et al. 2010) lassen vermuten, dass autoimmunpathologische Prozesse an der Entstehung der Narkolepsie beteiligt sind.

Nachweismethoden

Der Nachweis der Antikörper erfolgte mittels Elisa unter Verwendung eines rekombinanten Glutathion-S-Transferase-Fusionspeptids mit den 28 C-terminalen Aminosäuren der TRIB2-Sequenz (Cvetkovic et al. 2010) sowie mittels Radioimmunopräzipitation von rekombinatem, *in vitro* transkribiertem und translatiertem ^{35}S -Methionin markiertem (Abbildung 1) vollständigem TRIB2-Protein (Kawashima et al. 2010; Toyoda et al. 2010). Als Untersuchungsmaterialien wurden Serum und Liquor cerebrospinalis eingesetzt.



TRIB2-Autoantikörper (Tribbles homolog 2)

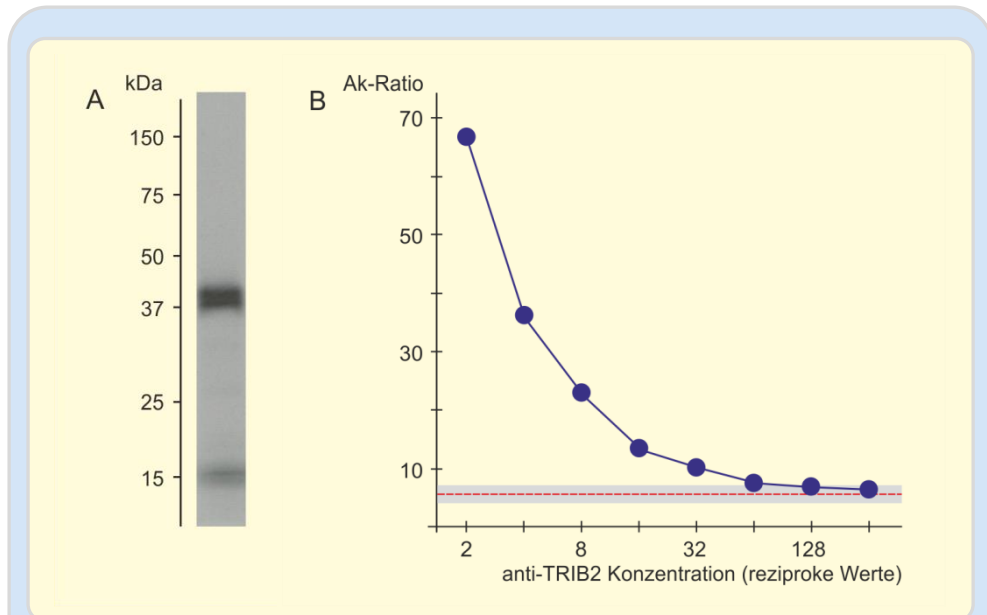


Abbildung 1 Nachweis von Autoantikörpern gegen TRIB2 mittels Radioimmunpräzipitation (Untersuchungen in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Leb. Chem. O. Bauer).

A Autoradiogramm eines mittels SDS-PAGE aufgetrennten, *in vitro* transkribierten und translatierten sowie ^{35}S -Methionin markierten vollständigen TRIB2-Proteins (343 Aminosäuren, Mr 38,8 kDa) nach Chromatographie auf Sephadex G10 zur Entfernung nicht eingebauten Methionins. Die für die Synthese als Template dienende cDNA wurde aus einer humanen Cerebellum-cDNA-Bibliothek mit entsprechenden Primern amplifiziert (100 % Übereinstimmung mit der Konsensus-Sequenz; NP_067675.1; Q92519) und in einen modifizierten pCITE-4a-Vektor (Novagen) kloniert. Das radioaktive Antigen ist weitgehend frei von Kontaminationen und besitzt das zu erwartende Molekulargewicht.

B Standardkurve der Radioimmunpräzipitation von ^{35}S -Methionin-TRIB2 mit einem polyvalenten anti-TRIB2-Antikörper vom Kaninchen (TRIB-2 (H-53); Santa Cruz Biotechnology). Die gestrichelte rote Linie entspricht dem Mittelwert von 5 Negativkontrollen, der Graubereich entspricht $\pm 1\text{SD}$. Sie Auswertung der Immunpräzipitation erfolgte nach Frey et al. 1998.

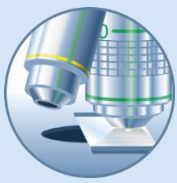
Literatur

Cvetkovic-Lopes V, Bayer L, Dorsaz S, Maret S, Pradervand S, Dauvilliers Y, Lecendreux M, Lammers GJ, Donjacour CE, Du Pasquier RA, Pfister C, Petit B, Hor H, Mühlethaler M, Tafti M: Elevated Tribbles homolog 2-specific antibody levels in narcolepsy patients. *J Clin Invest* (2010); 120(3): 713 - 719 (PMID: [20160349](#)).

Grandinetti KB, Stevens TA, Ha S, Salamone RJ, Walker JR, Zhang J, Agarwalla S, Tenen DG, Peters EC, Reddy VA: Overexpression of TRIB2 in human lung cancers contributes to tumorigenesis through downregulation of C/EBP α . *Oncogene* (2011); 30(30): 3.328 - 3.335 (PMID: [21399661](#)).

Frey A, Di Canzio J, Zurakowski D: A statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays. *J Immunol Methods* (1998); 221(1-2): 35 - 41 (PMID: [9894896](#)).

Hallmayer J, Faraco J, Lin L, Hesselton S, Winkelmann J, Kawashima M, Mayer G, Plazzi G, Nevsimalova S, Bourgin P, Hong SC, Honda Y, Honda M, Högl B, Longstreth WT Jr, Montplaisir J, Kemlink D, Einen M, Chen J, Musone SL, Akana M, Miyagawa T, Duan J, Desautels A, Erhardt C, Hesla PE, Poli F, Frauscher B, Jeong JH, Lee SP, Ton TG, Kvale M, Kolesar L, Dobrovolná M, Nepom GT, Salomon D, Wichmann HE, Rouleau GA, Gieger C, Levinson DF, Gejman PV, Meitinger T, Young T, Peppard P, Tokunaga K, Kwok PY, Risch N, Mignot E: Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha locus. *Nat Genet* (2009); 41(6): 708 - 711 (PMID: [194121769](#)).



TRIB2-Autoantikörper (Tribbles homolog 2)

Hannon MM, Lohan F, Erbilgin Y, Sayitoglu M, O'Hagan K, Mills K, Ozbek U, Keeshan K: Elevated TRIB2 with NOTCH1 activation in paediatric/adult T-ALL. *Br J Haematol* (2012); 158(5): 626 - 634 (PMID: [22775572](#)).

Katzav A, Arango MT, Kivity S, Tanaka S, Givaty G, Agmon-Levin N, Honda M, Anaya JM, Chapman J, Shoenfeld Y: Passive transfer of narcolepsy: anti-TRIB2 autoantibody positive patient IgG causes hypothalamic orexin neuron loss and sleep attacks in mice. *J Autoimmun* (2013); 45: 24 - 30 (PMID: [23834844](#)).

Kawashima M, Lin L, Tanaka S, Jennum P, Knudsen S, Nevsimalova S, Plazzi G, Mignot E: Anti-Tribbles homolog 2 (TRIB2) autoantibodies in narcolepsy are associated with recent onset of cataplexy. *Sleep* (2010); 33(7): 869 - 874 (PMID: [20614846](#)).

Lohan F, Keeshan K: The functionally diverse roles of tribbles. *Biochem Soc Trans* (2013); 41(4): 1.096 - 1.100 (PMID: [23863185](#)).

Longstreth WT Jr, Koepsell TD, Ton TG, Hendrickson AF, van Belle G: The epidemiology of narcolepsy. *Sleep* (2007); 30(1): 13 - 26 (PMID: [17310860](#)).

Mignot E, Lin L, Rogers W, Honda Y, Qiu X, Lin X, Okun M, Hohjoh H, Miki T, Hsu S, Leffell M, Grumet F, Fernandez-Vina M, Honda M, Risch N: Complex HLA-DR and -DQ interactions confer risk of narcolepsy-cataplexy in three ethnic groups. *Am J Hum Genet* (2001); 68(3): 686 - 699 (PMID: [11179016](#)).

Overeem S, Black JL 3rd, Lammers GJ: Narcolepsy: immunological aspects. *Sleep Med Rev* (2008); 12(2): 95 - 107 (PMID: [18291691](#)).

Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R, Li R, Hungs M, Pedrazzoli M, Padigaru M, Kucherlapati M, Fan J, Maki R, Lammers GJ, Bouras C, Kucherlapati R, Nishino S, Mignot E: A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* (2000); 6(9): 991 - 997 (PMID: [10973318](#)).

Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M, Cornford M, Siegel JM: Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* (2000); 27(3): 469 - 474 (PMID: [11055430](#)).

Toyoda H, Tanaka S, Miyagawa T, Honda Y, Tokunaga K, Honda M: Anti-Tribbles homolog 2 autoantibodies in Japanese patients with narcolepsy. *Sleep* (2010); 33(7): 875 - 878 (PMID: [20614847](#)).

Zhang Y, Davis JL, Li W: Identification of tribbles homolog 2 as an autoantigen in autoimmune uveitis by phage display. *Mol Immunol* (2005); 42(11): 1.275 - 1.281 (PMID: [15950723](#)).