



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The two faces of MuSK antibody pathogenicity and their cause and consequences in myasthenia gravis

Vergoossen, D.L.E.

Citation

Vergoossen, D. L. E. (2023, March 7). *The two faces of MuSK antibody pathogenicity and their cause and consequences in myasthenia gravis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3567889>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3567889>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse Samenvatting

Myasthenia gravis (MG) is een neuromusculaire auto-immuunziekte die wordt veroorzaakt door antistoffen tegen het eiwit muscle-specific kinase (MuSK) in ongeveer 5% van de MG patiënten. MuSK MG patiënten hebben last van vermoeibare spierzwakte vooral in hun bulbaire spieren en hebben een verhoogd risico op een ademhalingscrisis. MuSK is een essentieel eiwit voor het vormen en in stand houden van de zenuw-spierovergang. Verstoring van MuSK's functie door antistoffen hindert de signaaloverdracht in de zenuw-spierovergang. MuSK antistoffen zijn vooral van de IgG4 subklasse en kunnen daardoor half-moleculen uitwisselen met andere IgG4s (Fab-arm exchange). Dit resulteert in monovalente binding aan MuSK. De eigenschappen van MuSK antistoffen hangen af van de (diersoort-specifieke) subklassen en isotypes. **Hoofdstuk 1** beschrijft de lessen die we hebben geleerd uit eerder onderzoek met MuSK antistoffen door de verschillende eigenschappen van antistoffen in de juiste context te plaatsen. Dit helpt ons te begrijpen wat de veroorzakende mechanismen van MuSK antistoffen in MuSK MG zijn, en dat de bron van de gebruikte antistoffen belangrijk is.

Eén van de hypothesen met betrekking tot waarom antistoffen tegen MuSK van de IgG4 subklasse zijn, wordt behandeld in **hoofdstuk 2**. Hier wordt het onderzoek beschreven hoe de samenstelling van immunoglobulines in het serum van MuSK MG patiënten (IgG4 auto-immuunziekte) verschilt met die van acetylcholine receptor (AChR) MG patiënten (IgG1/3 auto-immuunziekte) en gezonde donoren. Deze studie laat zien dat MuSK MG patiënten relatief meer IgG4 in hun serum hebben vergeleken met de andere groepen, maar voor de meeste MuSK MG patiënten valt hun IgG4 titer binnen de normaalverdeling. MuSK MG patiënten lijken dus niet een algemene aanleg te hebben om IgG4 antistoffen te produceren. De dominantie van IgG4 MuSK antistoffen heeft dus een andere oorzaak.

Monoklonale antistoffen zijn goede hulpmiddelen om systematisch de gevolgen van specifieke eigenschappen van antistoffen te onderzoeken. **Hoofdstuk 3** beschrijft de isolatie van monoklonale MuSK antistoffen van MuSK MG patiënten. Zes sequenties van B-cel receptoren zijn bepaald uit klonale MuSK-reactieve B-cel kweken en recombinant geproduceerd als monoklonale antistoffen. De hieruit voortkomende monovalente Fab fragmenten tegen MuSK zijn antagonisten van MuSK signalering, vergelijkbaar met de effecten van gezuiverd IgG4 van MuSK MG patiënten. Bivalente MuSK antistoffen zijn daarentegen agonisten van

MuSK signalering, waarschijnlijk door het forceren van de dimerisatie van twee MuSK moleculen onafhankelijk van agrine. De valentie van deze monoklonale MuSK antistoffen bepaalt dus welke gevolgen ze hebben op de *in vitro* MuSK signalering.

Hoofdstuk 4 vertaalt de valentie-afhankelijke *in vitro* effecten van de MuSK antistoffen naar de mate van ziekmakendheid *in vivo*. Passieve immunisatie met monoklonale monovalente MuSK antistoffen onafhankelijk van de kloon veroorzaakt snel vermoeibare spierzwakte gekarakteriseerd door compleet verlies van spierkracht, gewichtsverlies en het verlies van AChR in de zenuw-spirovergang. In tegenstelling zijn de effecten van hun equivalente bivalente antistoffen wel afhankelijk van kloon en zijn zij óf niet ziekteverwekkend óf minder ziekteverwekkend met een langzamere ontwikkeling van gewichtsverlies en spierzwakte. De valentie-afhankelijke verschillen komen waarschijnlijk door de tegenovergestelde effecten op MuSK signalering beschreven in hoofdstuk 3. De functionele monovalentie verergert dus de ziekmakendheid van monoklonale MuSK antistoffen. Dit suggereert dat de overschakeling van IgG subklasse naar IgG4 MuSK antistoffen mogelijk een kritieke stap is in het ontwikkelen van MuSK MG klachten.

Om de ziektemechanismen van MuSK MG beter te begrijpen, onderzoekt **hoofdstuk 5** de gevolgen van MuSK antistoffen met verschillende eigenschappen op de zenuw-spirovergang. Dit hoofdstuk laat zien dat de valentie van de MuSK antistoffen de gevolgen op agrine-gemedieerde MuSK activatie, Dok7 binding aan MuSK en expressie van zenuw-spirovergang genen beïnvloedt. Daarnaast verhindert een monovalente MuSK antistof tegen het frizzled domein van MuSK agrine-gemedieerde MuSK activatie niet, terwijl MuSK antistoffen tegen het Ig-like 1 domein dat wel doen. Bivalente MuSK antistoffen hebben verschillende effecten op de afbraak van Dok7, welke wellicht afhankelijk zijn van het epitoom tussen en binnen structurele domeinen van MuSK. De gevolgen en ziekteverwekkendheid van MuSK antistoffen hangen dus af van minstens een combinatie van valentie en epitoom. De pathofysiologie van MuSK MG in individuele patiënten hangt waarschijnlijk af van de unieke samenstelling van hun MuSK antistoffen.

Om breder zicht te krijgen op de mogelijke gevolgen van antistoffen in MG buiten de zenuw-spirovergang geeft **hoofdstuk 6** een uitgebreid overzicht van de timing en lokalisatie van genexpressie van MG-gerelateerde genen. Uit deze *in silico* analyse van bestaande expressie databases blijkt dat MuSK en zeven andere genen betrokken bij

(congenitale) myasthenia gravis tot expressie komen op verschillende locaties buiten skeletspieren. Deze genen laten een beperkte co-expressie zien in deze locaties. Dit maakt het onwaarschijnlijk dat deze genen samenwerken met één functioneel doel zoals in skeletspieren. Deze locaties lopen wel risico op niet-spier gerelateerde symptomen van autoantistoffen, of bijwerkingen van nieuwe therapieën gericht op deze eiwitten.