

1.2 Angeborene Immundefekte

KLAUS SCHWARZ, SEBASTIAN D. FUGMANN, ULRICH PANNICKE und CLAUD R. BARTRAM

Inhaltsverzeichnis			
1.2.1	Einleitung	40	
1.2.2	Hypo-/Agammaglobulinämien	41	
1.2.2.1	X-chromosomale Agammaglobulinämie (XLA, Agammaglobulinämie Bruton)	41	
1.2.2.1.1	Krankheitsbild	42	
1.2.2.1.2	Molekularbiologie	43	
1.2.2.1.3	Diagnose und Therapie	43	
1.2.2.2	Defekt der schweren Kette des Immunglobulins M	43	
1.2.2.2.1	Molekularbiologie	44	
1.2.2.2.2	Diagnose und Therapie	44	
1.2.2.3	Hyper-IgM-Syndrom (HIGM1)	44	
1.2.2.3.1	Krankheitsbild	44	
1.2.2.3.2	Molekularbiologie	45	
1.2.2.3.3	Diagnose und Therapie	45	
1.2.3	Kombinierte Immundefekte	47	
1.2.3.1	Allgemeine Einführung zu den Krankheitsbildern	47	
1.2.3.1.1	Klinik	47	
1.2.3.1.2	Diagnostik	48	
1.2.3.1.3	Therapie	48	
1.2.3.2	Lymphozytendifferenzierung	49	
1.2.3.2.1	Defekt der Rekombinase-aktivierenden Gene 1 und 2 (RAG1 und RAG2)	49	
1.2.3.3	Purinostoffwechsel	51	
1.2.3.3.1	Purinnukleosidphosphorylasedefizienz (PNP-Defizienz)	51	
1.2.3.3.2	Adenosindeaminasedefizienz (ADA-Defizienz)	53	
1.2.3.4	Antigenpräsentation	55	
1.2.3.4.1	HLA-Klasse-I-Mangel (bare lymphocyte syndrome I, BLS I) durch Peptidtransporterdefekt (TAP2-Defekt)	55	
1.2.3.4.2	HLA-Klasse-II-Mangel (BLS II)	56	
1.2.3.5	Signaltransduktionsdefekte	58	
1.2.3.5.1	CD3-Defizienzen	58	
1.2.3.5.2	Defekt des ζ-Ketten assoziierten Proteins (ZAP70-Defekt)	60	
1.2.3.5.3	Interleukin-2-Defizienz (IL-2-Defizienz)	61	
1.2.3.5.4	X-chromosomaler schwerer kombinierter Immundefekt (γ _c -Defekt)	62	
1.2.3.5.5	Janus-Kinase-3-Defizienz (JAK3-Defizienz)	64	
1.2.3.5.6	Autoimmun-lymphoproliferatives Syndrom (ALPS, FAS-Defekt)	65	
1.2.3.5.7	Interferon γ Rezeptor-Defekt (IFNGR1-Defekt)	67	
1.2.4	Immundefektsyndrome	68	
1.2.4.1	DiGeorge-Syndrom (CATCH 22)	68	
1.2.4.1.1	Krankheitsbild	68	
1.2.4.1.2	Molekularbiologie	69	
1.2.4.1.3	Diagnose und Therapie	69	
1.2.4.2	Ataxia teleangiectatica (Louis-Bar-Syndrom, AT)	69	
1.2.4.2.1	Krankheitsbild	69	
1.2.4.2.2	Zytogenetik	70	
1.2.4.2.3	Zellbiologie	70	
1.2.4.2.4	Molekularbiologie	70	
1.2.4.2.5	Diagnose und Therapie	71	
1.2.4.3	Bloom-Syndrom (BS)	71	
1.2.4.3.1	Krankheitsbild	71	
1.2.4.3.2	Zytogenetik	72	
1.2.4.3.3	Molekularbiologie	72	
1.2.4.3.4	Diagnose und Therapie	73	
1.2.4.4	Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS), X-chromosomale Thrombozytopenie (XLT)	73	
1.2.4.4.1	Krankheitsbild	73	
1.2.4.4.2	Molekularbiologie	73	
1.2.4.4.3	Diagnose und Therapie	75	
1.2.5	Ausblick	75	
1.2.6	Literatur	76	

1.2.1 Einleitung

Das körpereigene Abwehrsystem setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen. Die ersten Barrieren gegenüber einer Infektion sind die Haut und Schleimhäute sowie deren Sekrete. Sollten Keime diese Hürden überwinden, treffen sie auf die unspezifische Abwehr, bestehend aus dem Gra-

nulozyten-, Monozyten- und Makrophagensystem sowie den Zytokinen und den Komplementfaktoren. Genetische Defekte des unspezifischen Abwehrsystems führen zu umschriebenen Krankheitsbildern, z.B. der Leukozytenadhäsionsdefizienz, der septischen Granulomatose, der angeborenen Agranulozytose oder dem Chediak-Higashi-Syndrom sowie Komplementdefekten.

Tabelle 1.2.1. Primäre Immundefektgene

Mutierte Gene	Chromosomale Lokalisation	Immundefekt
<i>Hypo- und Agammaglobulinämien</i>		
Bruton-Tyrosinkinase (BTK)	Xq22	X-chromosomale Agammaglobulinämie (XLA)
Schwere Kette von IgM	14q32	Agammaglobulinämie
CD40-Ligand (CD40L)	Xq26	Hyper-IgM-Syndrom (HIGM1)
<i>Kombinierte Defekte</i>		
Lymphozytendifferenzierung: Rekombinase-aktivierende Gene 1 und 2 (RAG1/2)	11p13	Autosomal-rezessive SCID
Purinstoffwechsel: Purinnukleosidphosphorylase (PNP)	14q13.1	PNP-Defekt
Adenosindeaminase (ADA)	20q13.4	ADA-Defizienz; autosomal-rezessive SCID
Antigenpräsentation: Transporter-assoziiertes Protein 2 (TAP2)	6p21.3	HLA-Klasse-I-Defekt (BLS I) HLA-Klasse-II-Defekt (BLS II)
Klasse-II-Transaktivator (C-II-TA)	16	(Komplementationsgruppe A)
Regulatorischer Faktor X5 (RFX 5)	1	HLA-Klasse-II-Defekt (BLS II) (Komplementationsgruppe C)
RFX-assoziiertes Protein (RFX-AP)		HLA-Klasse-II-Defekt (BLS II) (Komplementationsgruppe D)
Signaltransduktionsdefekte: Cluster of differentiation γ (CD3 γ)	11q23	Vornehmlich T-Zell-Defekt
Cluster of differentiation ϵ (CD3 ϵ)	11q23	Vornehmlich T-Zell-Defekt
ζ -Ketten-assoziiertes Protein (ZAP70)	2q12	Autosomal-rezessive SCID
?	?	Interleukin-2-Defizienz, autosomal-rezessive SCID
Common- γ -chain (γ c)	Xq13.1	X-chromosomale SCID (XSCID)
Janus-Kinase 3 (JAK3)	19p13.1	Autosomal-rezessive SCID
FAS	10q24.1	Autoimmun, lymphoproliferatives Syndrom (ALPS, Canale-Smith-Syndrom)
Interferon- γ -Rezeptor 1 (IFNGR1)	6q23–24	Mykobakterielle Infektionen
<i>Immundefektsyndrome</i>		
?	22q11	DiGeorge-Syndrom (CATCH 22)
Ataxia teleangiectatica mutiert (ATM)	11q22–23	Ataxia teleangiectatica
Bloom-Syndrom mutiert (BLM)	15q26.1	Bloom-Syndrom
Wiskott-Aldrich-Syndrom-Protein (WASP)	Xp11.23	Wiskott-Aldrich-Syndrom

Die 3. Stufe des Abwehrsystems bildet das Immunsystem mit seinen Protagonisten, den Lymphozyten. Es zeichnet sich dadurch aus, daß es Antigen-abhängig reagiert und ein spezifisches Gedächtnis ausbildet. Primäre Immundefekte (ID) sind genetische Erkrankungen dieses lymphatischen Immunsystems. Als Folge eines primären ID kommt es in variablem Ausmaß zu rekurrierenden viralen, bakteriellen, Pilz- und Protozoenerkrankungen.

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl von Erkrankungen des spezifischen Immunsystems aufgeklärt (Tabelle 1.2.1). Das Studium dieses primären ID verhalf zu einem erweiterten Verständnis des Immunsystems, da die ID die Lymphozytenentwicklung ebenso beeinflussen wie deren Aktivierungs-, Signaltransduktions- und Interaktionswege (Abb. 1.2.1).

1.2.2 Hypo-/Agammaglobulinämien

1.2.2.1 X-chromosomale Agammaglobulinämie (XLA, Agammaglobulinämie Bruton)

Die X-chromosomale Agammaglobulinämie wurde im Jahr 1952 als erste genetische Immundefizienz identifiziert und beschrieben [Bruton 1952]. Das Knochenmark der betroffenen Patienten ist nicht in der Lage, reife B-Lymphozyten zur Vermittlung der humoralen Immunabwehr zur Verfügung zu stellen. Der molekulare Defekt der Erkrankung beruht auf einem funktionellen Ausfall der Bruton-Tyrosinkinase (BTK), einer zytoplasmatischen Kinase, die ein Schlüsselmolekül für die B-Zell-Entwicklung darstellt [Tsukada et al. 1993, Vetrie et al. 1994].

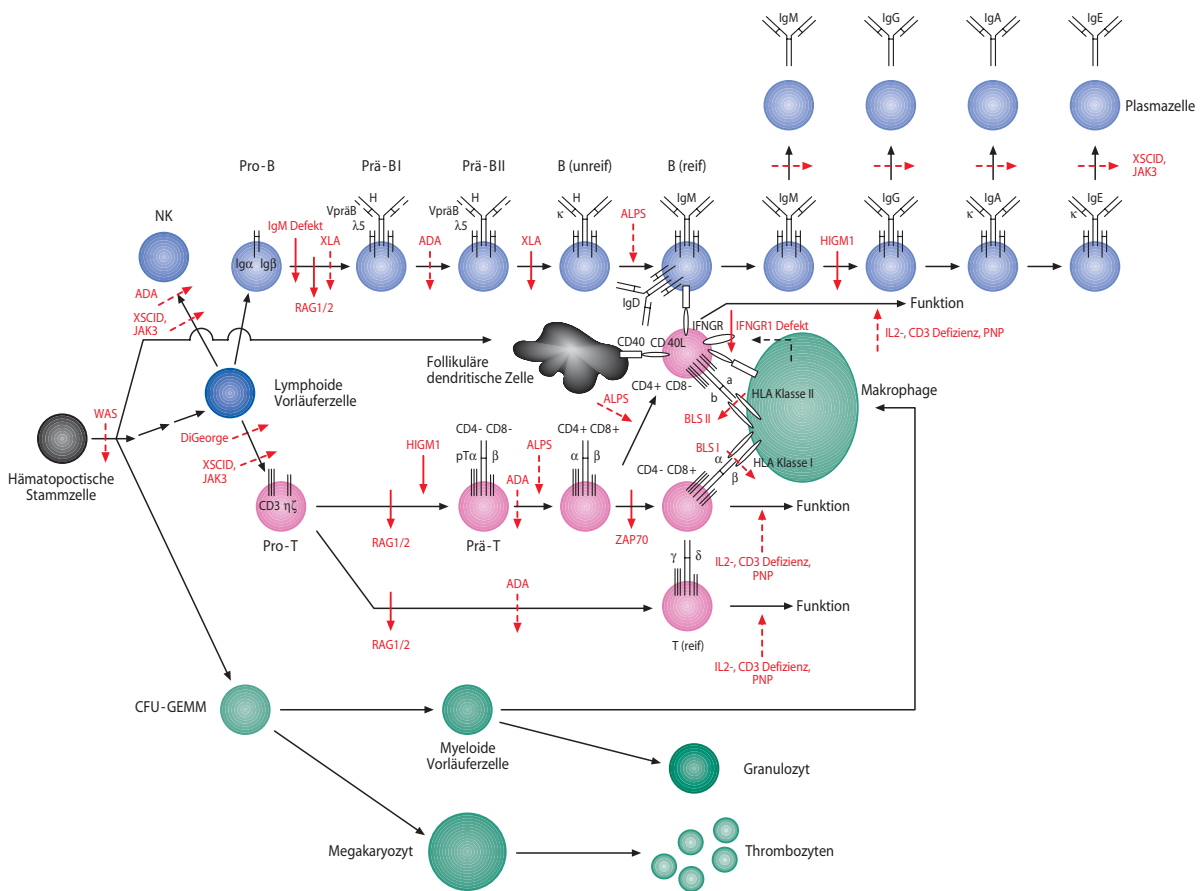


Abb. 1.2.1. Schema der Lymphozytenentwicklung. Rot eingezeichnet sind in diesem Kapitel beschriebene Defekte. *Nicht kreuzende Pfeile* zeigen zelluläre Differenzierungsstufen an, die durch einen funktionellen Ausfall des entsprechenden

Gens charakterisiert sind. Dies geht mit (*kreuzende Pfeile*) oder ohne einen Differenzierungsblock einher; *ausgefüllter Pfeil* kompletter Block, *punktierter Pfeil* partieller Block

1.2.2.1.1 Krankheitsbild

Bei Patienten, die an einer X-chromosomal-rezessiven Agammaglobulinämie leiden, finden sich im peripheren Blut keine oder sehr wenige (bis 1%) reife B-Lymphozyten oder Plasmazellen. Die Anzahl aller anderen Zellen hämatopoetischen Ursprungs ist jedoch normal. Die Serumspiegel der 3 Hauptimmunglobulinklassen IgA, IgG und IgM sind dementsprechend sehr niedrig oder nicht nachweisbar. Daher sind die Patienten anfällig gegenüber bakteriellen Erregern. Häufig finden sich *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonaden* als Ursache von Infekten. Zudem wurden Infektionen durch andere bakterielle Spezies wie *Salmonella* und *Campylobacter* sowie durch Mykoplasmen beschrieben [Ochs u. Smith 1996]. Meist betreffen die Erkrankungen den Respirationstrakt und führen zu einer Sinusitis, Bronchitis, Otitis

oder Pneumonie. Darüber hinaus werden oft septische Arthritiden, pyogene Meningitiden oder eine Sepsis diagnostiziert. Nicht selten leiden die Betroffenen an einer Diarrhö verbunden mit einer Malabsorption. Bei 1/3 aller XLA-Patienten zeigen sich Hautinfektionen, beispielsweise eine Impetigo. Da die T-Zell-vermittelte Immunabwehr der Patienten intakt ist, verfügen sie über ein normales Reaktionsvermögen auf virale Infekte. Ausnahmen sind Infektionen mit Enteroviren, wie Echo- und Cocksackieviren, die Meningoenzephalitiden, oft einhergehend mit einer Dermatomyositis-ähnlichen Symptomatik, hervorrufen. XLA-Patienten scheinen auch einem erhöhtem Risiko zu unterliegen, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln [Van der Meer 1993]. Histologisch auffällig sind die Mandeln und die Lymphknoten. Beide Gewebe sind gewöhnlich reich an B-Lymphozyten. Sie erscheinen jedoch hier hypoplastisch oder können fast vollständig fehlen [Ochs u. Smith 1996].

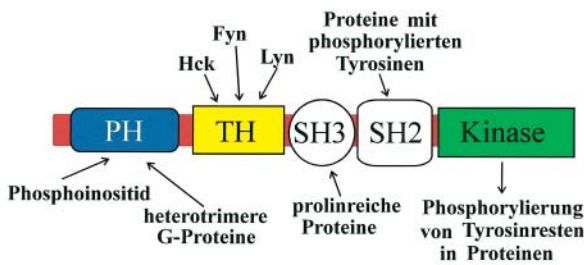


Abb. 1.2.2. Schematische Darstellung des BTK-Proteins, seiner 5 Domänen sowie deren mögliche Interaktionen mit anderen zellularen Komponenten, PH Pleckstrin-Homologiedomäne, TH Tec-Homologiedomäne, SH2, SH3 SRC-Homologiedomänen. Mutationen in allen Domänen führen zu einer XLA

1.2.2.1.2 Molekularbiologie

Reife B-Lymphozyten, die die humorale Immunabwehr vermitteln, entwickeln sich im Knochenmark aus den Vorläuferstadien der Pro-B- und Prä-B-Zelle. Bei XLA-Patienten finden sich im Knochenmark in verminderter Zahl noch Prä-B-Zellen, der Reifungsprozeß zu B-Zellen kann aber nicht vollzogen werden. Die molekulare Ursache für diese Entwicklungsblockade des B-Lymphozyten-Systems liegt in Mutationen des Gens, das die Bruton-Tyrosinkinase kodiert. Das Gen ist auf dem langen Arm des X-Chromosoms (Xq21.3–22) lokalisiert, in 19 Exons unterteilt und erstreckt sich über 37,5 kb. Das Gen wird in allen hämatopoetischen Zelllinien außer T-Zellen und Plasmazellen exprimiert. Die mRNA umfaßt 2.560 Nukleotide und kodiert ein Protein von 659 Aminosäuren Länge [Vetrie et al. 1993]. Das BTK-Protein liegt in der Zelle im Zytoplasma vor. Es weist 5 funktionelle Domänen auf (Abb. 1.2.2). Die N-terminale Pleckstrin-Homologie-Domäne (PH-Domäne) kann Phosphoinositid, heterotrimere G-Proteine sowie Proteinkinase C binden, die allesamt an der intrazellularen Signalvermittlung beteiligt sind. Die Tec-Homologie-Domäne (TH-Domäne) ist in der Lage, mit zytoplasmatischen Proteinen wie Fyn, Hck und Lyn, die ebenfalls in verschiedenen Signalketten mitwirken, zu interagieren [Cheng et al. 1994]. Die Src-Homologie-3-Domäne (SH3-Domäne) ermöglicht Interaktionen von BTK mit Proteinen, die prolinreiche Segmente enthalten. Die Src-Homologie-2-Domäne (SH2-Domäne) bindet an Proteine, die phosphorylierte Tyrosine enthalten. Zudem weist das BTK-Protein eine Kinasedomäne auf, die ihrerseits Tyrosine von Zielproteinen phosphorylieren kann. Die Bruton-Tyrosinkinase verfügt somit über zahlreiche, komplexe Interakti-

onsmöglichkeiten mit anderen zellularen Proteinen und kann durch ihre Kinaseaktivität als Mediator in diversen Signalkaskaden agieren. Die genaue Rolle des Proteins in der B-Lymphozyten-Entwicklung ist noch ungeklärt [Rawlings u. Witte 1994]. Bislang wurden bei XLA-Patienten 175 verschiedene Mutationen in 236 Familien beschrieben (Übersicht bei Vihinen et al. [1996]). Mutationen in allen 5 Domänen führen zum Phänotyp der X-chromosomalen Agammaglobulinämie, d.h. jedes einzelne dieser Motive leistet einen wichtigen Beitrag zur Funktion des Proteins.

1.2.2.1.3 Diagnose und Therapie

Bei älteren Kindern weisen niedrige Serumspiegel an IgG und abwesende IgA- und IgM-Immunglobuline auf eine Störung der B-Zell-Entwicklung hin. Immunglobulinkonzentrationen im fetalen Nabelschnurblut oder im Serum von Kindern, die jünger als 6 Monate sind, sind dagegen nicht informativ, da bis zu diesem Zeitpunkt plazentagängiges mütterliches Immunglobulin G im Blut der Patienten zirkuliert. Einen eindeutigen Aufschluß über das Vorliegen einer X-gekoppelten Agammaglobulinämie gibt die Sequenzanalyse des *BTK*-Gens. Durch die Ermittlung von Mutationen bei Müttern ist es möglich, einen Überträgerstatus zu definieren. Als ein Diagnosekriterium kann auch der X-Inaktivierungsstatus dienen, der mittels polymorpher DNA-Marker ermittelt wird; bei Überträgerinnen dieser Erkrankung ist in B-Lymphozyten jeweils das betroffene X-Chromosom inaktiviert. Zur Pränataldiagnose bei männlichen Feten mit Verdacht auf XLA wird die B-Lymphozyten-Zahl im fetalen Nabelschnurblut bestimmt. Sie ist im Fall einer Erkrankung drastisch erniedrigt.

Die i.v. Verabreichung von Serumimmunglobulin G zur Rekonstitution der humoralen Immunabwehr stellt derzeit die Therapie der Wahl bei XLA-Patienten dar. Die Behandlung hat eine günstige Prognose, wenn sie eingeleitet wird, bevor die Patienten chronische Symptome einer Agammaglobulinämie entwickeln.

1.2.2.2 Defekt der schweren Kette des Immunglobulins M

Diese autosomal-rezessive Erkrankung wurde 1996 als eigenständige Agammaglobulinämie erkannt [Yel et al. 1996]. Dieser ID ist eine Phänokopie der XLA. Den Patienten mangelt es an Immunglobulinen und B-Zellen im peripheren Blut. Die Pro-B-

Zell-Zahl im Knochenmark ist unauffällig, die Prä-B-Zellen sind jedoch erheblich reduziert. Der klinische Verlauf dieser Patienten unterscheidet sich nicht von der XLA (s. Kapitel 1.2.2.1 „X-chromosomale Agammaglobulinämie (XLA, Agammaglobulinämie Bruton)“).

1.2.2.2.1 Molekularbiologie

5–10% der Patienten mit einem frühen Beginn der Agammaglobulinämie sind Mädchen. Dies legte bereits die Vermutung nahe, daß neben *BTK*-Mutationen autosomale Gendefekte diesen Phänotyp verursachen können. Bei der Suche nach Kandidatengen für autosomal-rezessiv vererbte Agammaglobulinämien wurden in 3 Familien Veränderungen der schweren Kette des Immunglobulins M (IgM) gefunden. Das Gen für die schwere Kette des IgM liegt, wie alle anderen Schwere-Ketten-Immunglobulingene, auf Chromosom 14q32 und umfaßt mindestens 2 Megabasen. Das Exon, das den variablen Anteil kodiert, wird durch V(D)J-Rekombination erzeugt. Der konstante Anteil des Schwere-Ketten-IgM-Gens umfaßt 6 Exons. Die beiden letzten Exons werden durch alternatives Spleißen der mRNA angefügt, wenn ein Anker das IgM-Molekül in der Membran der B-Zelle zurückhalten soll. Die prozessierte RNA ist etwa 2,7 kb (Membranform) oder 2,4 kb (sezernierte Form) lang und kodiert ein Protein mit einem MG von 55 000–59 000.

Die erwähnten Familien wurden zur Analyse ausgewählt, weil entweder weibliche Patienten mit Agammaglobulinämie im Stammbaum auftraten oder weil bei Betroffenen keine *BTK*-Mutationen nachgewiesen werden konnten [Yel et al. 1996]. In einer konsanguinen Familie war auf beiden IgM-Allelen eine Deletion nachweisbar, die sich von den D-Elementen über die J-Module bis in die konstante Region inklusive Membrananker der IgM-schweren-Kette erstreckte, so daß keine IgM-schwere-Kette gebildet werden konnte. Bei einer 2. Familie fand sich im Exon 4 des konstanten Anteils eine Substitutionsmutation in der alternativen Spleißdonorsequenz für den Membrananker. Diese Substitution hat 3 Konsequenzen. Zum einen wird in der sezernierten, zum anderen in der membranverankerten IgM-Kette jeweils eine andere Aminosäure spezifisch verändert, zudem ist die Möglichkeit zu einem korrekten Spleißvorgang deutlich eingeschränkt.

Ein weiterer Patient wies auf einem Allel eine IgH-Locus-Deletion von mindestens 260 kb auf, sein 2. Allel zeigte eine Mutation des C-terminalen

Cysteins, das an Disulfidbrücken innerhalb der IgM-Ketten beteiligt ist. Hieraus ergibt sich eine Instabilität der IgM-schweren-Kette.

Allen Mutationen gemeinsam ist, daß keine IgM-schwere-Kette gebildet werden kann. In Prä-B-Zellen wird die IgM-schwere-Kette gemeinsam mit einem Surrogat der leichten Kette als Prä-B-Zell-Rezeptor an die Membranoberfläche exportiert. Über diesen Rezeptor erhalten die Prä-B-Zellen des Knochenmarks ein Überlebenssignal. Bei Ausfall dieses Signals sterben die B-Progenitoren, wie in mehreren Modellen gezeigt wurde, ab [Kitamura et al. 1991].

1.2.2.2.2 Diagnose und Therapie

Die phänotypische Diagnose orientiert sich am für XLA-Patienten beschriebenen Vorgehen (s. Kapitel 1.2.2.1.3 „Diagnose und Therapie“). Nach Ausschluß eines *BTK*-Gen-Defekts ist bei männlichen Agammaglobulinämiepatienten eine Analyse des IgM-schwere-Ketten-Locus angezeigt; weibliche Patienten sollten bereits primär auf einen IgM-Defekt untersucht werden. Allerdings verbleiben auch dann noch Patienten mit Agammaglobulinämie, deren genetischer Defekt derzeit nicht molekular abklärbar ist. In jedem Fall richtet sich die Therapie nach den für die XLA beschriebenen Konzepten.

1.2.2.3 Hyper-IgM-Syndrom (HIGM1)

Das Hyper-IgM-Syndrom (X-linked immunodeficiency with hyper IgM; HIGM1) ist ein seltener, X-chromosomal vererbter T-Zell-Defekt, der nur in 0,3–2,0% aller primären Immundefizienzen diagnostiziert wird. Die betroffenen Patienten weisen eine normale Zahl an zirkulierenden B-Zellen im Blut auf, die jedoch nur die Immunglobuline M und/oder D, nicht aber IgG, IgA und IgE auf ihrer Oberfläche exprimieren. HIGM1 beruht auf Mutationen im Gen des CD40-Liganden (CD40L), das auf dem X-Chromosom lokalisiert ist. Das Syndrom wurde erstmals im Jahr 1961 von Rosen et al. [1961] und Burtin [1961] beschrieben. Seither sind weltweit gut 100 Fälle publiziert worden.

1.2.2.3.1 Krankheitsbild

Bei Knaben, die unter dem Hyper-IgM-Syndrom leiden, treten im 1. Lebensjahr, parallel zum abnehmenden Titer mütterlicher Antikörper im Serum des Kinds, hartnäckige bakterielle Infekte auf. Charakteristischerweise leiden die Patienten ge-

häuft an opportunistischen Infektionen ausgelöst durch *Pneumocystis carinii* und Kryptosporidien [Krocze et al. 1994]. Im hämatologischen System der Patienten finden sich häufig Symptome, die auf autoimmunologische Reaktionen zurückzuführen sind. Vor allem hämolytische Anämien, Thrombozytopenien sowie Neutropenien sind anzutreffen. Auch ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung von Non-Hodgkin- und Hodgkin-Lymphomen wurde bei Hyper-IgM-Patienten beschrieben [Notarangelo et al. 1992a]. Immunhistologisch sind in den Lymphorganen keine Keimzentren nachweisbar. Im Serum findet sich nur IgM, jedoch kein anderer Ig-Isotyp.

1.2.2.3.2 Molekularbiologie

B-Zellen sind gewöhnlich in der Lage, 5 Klassen von Immunglobulinen (IgM, IgD, IgG, IgA, IgE), die unterschiedliche konstante Regionen aufweisen, zu generieren. Die antikörperbildende Zelle stellt zunächst IgM bzw. IgD her, um zu einem späteren Entwicklungszeitpunkt auf die Produktion von IgG, IgA oder IgE umzuschalten. Bei diesem Vorgang, der Isotypenklassenwechsel (class switching) genannt wird, bleiben die leichte Ig-Kette sowie die variable Region der schweren Ig-Kette der Antikörper unverändert, nur die konstante Region der schweren Ig-Kette wird ausgetauscht. Mittels homologer Rekombination zwischen sog. DNA-switch-Elementen werden auf genomischer Ebene in B-Zellen die variablen antigenspezifischen schweren Ig-Ketten-Anteile von den konstanten Anteilen $C\mu$ und $C\delta$, welche die Isotypenklassen IgM und IgD definieren, abgekoppelt und mit $C\gamma$, $C\alpha$ oder $C\epsilon$ verknüpft. Diese B-Zellen produzieren dann Immunglobuline, die den Klassen IgG, IgA oder IgE angehören. Die B-Zellen von Patienten mit dem Hyper-IgM-Syndrom sind nicht in der Lage, diesen Umschaltvorgang zwischen den einzelnen Immunglobulinklassen durchzuführen. Dementsprechend präsentieren die betroffenen B-Zellen ausschließlich Immunglobuline der Klassen IgM und/oder IgD auf ihrer Oberfläche und kein IgG, IgA oder IgE [Hollenbaugh et al. 1994].

Das Signal zum Klassenwechsel im Sinn einer Erweiterung des funktionellen Antikörperrepertoires erhalten die B-Zellen über den CD40-Rezeptor (Abb. 1.2.3). Den zugehörigen CD40-Liganden (CD40L) exprimieren aktivierte $CD4^+$ -T-Zellen auf der Oberfläche. Darüber hinaus findet man eine CD40L-Expression auf aktivierten basophilen Granulozyten, Mastzellen, Monozyten und NK-Zellen

[Ramesh et al. 1994]. Das *CD40L*-Gen ist auf dem X-Chromosom im Bereich Xq26 lokalisiert, besteht aus 5 Exons und umspannt auf genomischer Ebene 13,3 kb DNA. Die cDNA weist eine Länge von 1.816 Nukleotiden auf und kodiert ein glykosyliertes Transmembranprotein von 261 Aminosäuren Länge. Die extrazelluläre Domäne erstreckt sich über 215 Aminosäuren, die Transmembrandomäne setzt sich aus 24 Aminosäuren zusammen und die N-terminale intrazelluläre Domäne umfaßt 22 Aminosäuren [Hollenbaugh et al. 1994]. Bei der molekulargenetischen Analyse des *CD40L*-Gens bei mehr als 50 HIGM1-Patienten wurden Punktmutationen, die zum Austausch der kodierten Aminosäure oder zu Stopkodons führen, Deletionen und Insertionen sowie Mutationen innerhalb von Spleißsequenzen, die zu einer fehlerhaften RNA-Prozessierung führen, nachgewiesen [Katz et al. 1996, Krocze et al. 1994, Lin et al. 1996, Macchi et al. 1995a, Ramesh et al. 1994, Thomas et al. 1995]. Alle Mutationen betreffen die extrazelluläre oder die Transmembrandomäne des CD40L-Proteins. Bei 2 Brüdern mit Hyper-IgM-Syndrom konnte keine Mutation in der genomischen DNA und cDNA im *CD40L*-Gen gefunden werden. Auch waren normale Mengen an *CD40L*-mRNA in aktivierten T-Zellen vorhanden. Jedoch konnte auf der T-Zell-Oberfläche kein CD40L-Protein nachgewiesen werden, so daß in diesen Fällen ein Defekt als Ursache der Erkrankung vermutet wird, der die Proteintranslation oder -stabilität beeinflusst [Ramesh et al. 1994].

Patienten, bei denen der CD40L nicht betroffen, jedoch eine Störung im CD40-Signaltransduktionsweg vorhanden ist, zeigen ebenfalls den Phänotyp eines Hyper-IgM-Syndroms [Durandy et al. 1997]. Es steht zu erwarten, daß Defekte unterschiedlichster Gene einen Hyper-IgM-Phänotyp hervorrufen können, da zu einem vollständigen Klassenwechsel nicht nur das CD40-CD40L-Signal isoliert verarbeitet wird, sondern weitere interzelluläre Signale integriert werden müssen. So verstärkt eine CD40L-Aktivierung der T-Zellen die kostimulatorische B7-CD28-Interaktion [Yang u. Wilson 1996], ohne die ein Klassenwechsel nicht möglich ist. Zum anderen steuern die durch Interleukine ausgelösten Veränderungen den spezifischen Klassenwechsel (IL-10 zu IgG₁ und IgG₃, TGF- β zu IgA und IL-4 zu IgE).

1.2.2.3.3 Diagnose und Therapie

Bei männlichen immundefizienten Patienten, die innerhalb des 1. Lebensjahrs bei normaler Zahl an

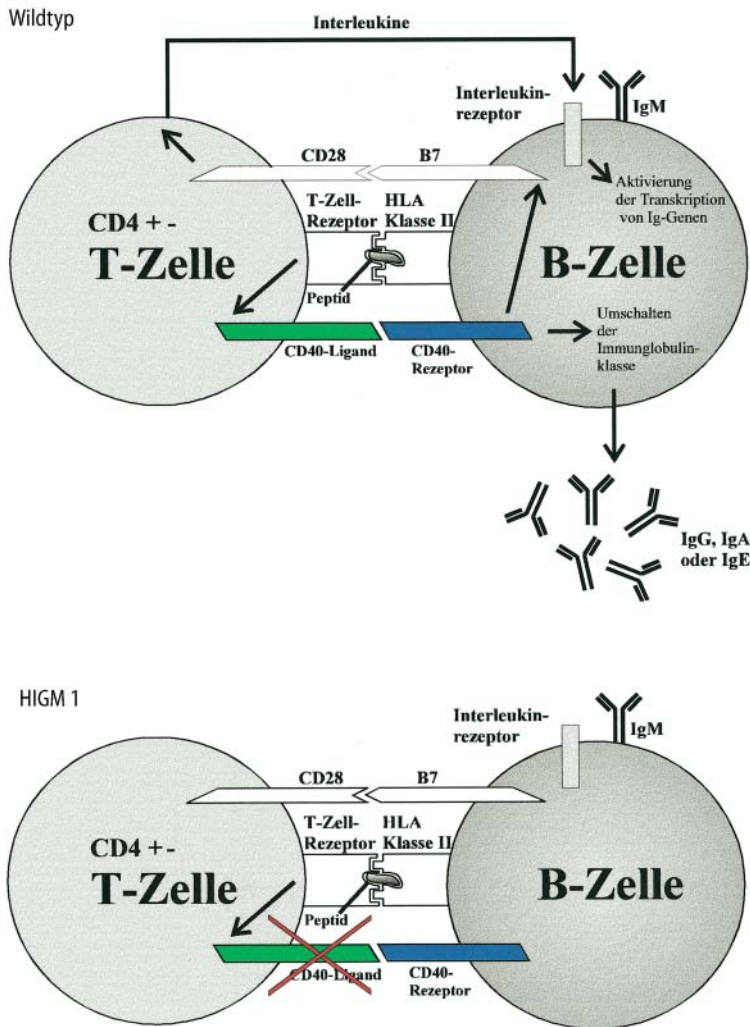


Abb. 1.2.3. Modell der Wechselwirkung zwischen B- und T-Zellen während der Umschaltung der Immunglobulinklassen. Die Erkennung des Komplexes aus einem HLA-Klasse-II-Molekül und dem zugehörigen Peptid durch den T-Zell-Rezeptor führt zu einer erhöhten Expression des CD40-Liganden auf der T-Zell-Oberfläche. Die Interaktion des CD40-Liganden mit CD40 ermöglicht dann das Umschalten der Immunglobu-

linklasse von IgM zu IgG, IgA oder IgE. Zudem wird verstärkt B7 auf der Oberfläche der B-Zellen exprimiert, was über eine CD28-Stimulation zu einer Sekretion von Interleukinen aus den CD4⁺-T-Zellen führt. Die Interleukine bewirken eine gesteigerte Transkription der Immunglobulingene. Der untere Teil der Darstellung zeigt die Auswirkungen eines Ausfalls des CD40-Liganden beim HIGM1-Syndrom

zirkulierenden B-Zellen auffällig niedrige IgG- und IgA-Spiegel im Serum aufweisen, sollte die Expression eines funktionellen CD40-Liganden auf aktivierten T-Zellen überprüft werden. Dies kann mit Hilfe monoklonaler Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne des CD40L-Proteins oder mit CD40-Ig-chimären, löslichen Proteinen geschehen. Da die cDNA-Sequenz und die Genstruktur bekannt sind, können Mutationen im *CD40L*-Gen mit Hilfe molekularer Methoden ermittelt werden [Kroczyk et al. 1994]. Eine Pränataldiagnostik ist dadurch möglich. Unklar ist bislang, ob in *CD40L*-

exprimierenden hämatopoetischen Zellen von Überträgerinnen spezifisch das mutierte X-Chromosom inaktiviert wird [Hollenbaugh et al. 1994, Notarangelo et al. 1992a]. Daher scheiden derzeit Untersuchungen zur X-Inaktivierung bei Müttern als diagnostisches Kriterium aus.

Eine therapeutische Beeinflussung durch i.v. Verabreichung von Immunglobulinen kann versucht werden [Notarangelo et al. 1992a]. Die Knochenmarktransplantation, wenn möglich von einem HLA-identischen Spender, stellt derzeit jedoch das einzige kurative Therapieverfahren dar.

Gegenwärtig wird die Möglichkeit einer somatischen Gentherapie zur Behandlung von Patienten mit Hyper-IgM-Syndrom erwogen. In T-Zellen der Patienten könnte das Gen als Wildtyp eingebracht werden, um so die ungestörte Aktivierung der Antikörper-produzierenden B-Zellen zu rekonstituieren. Allerdings muß dabei beachtet werden, daß die Expression des *CD40L*-Gens streng reguliert und das Gen nicht konstitutiv exprimiert wird. Eine Überexpression des Gens könnte Hypergammaglobulinämien oder Autoimmunphänomene zur Folge haben. Dementsprechend muß für diese Gentherapie ein Gentransfersystem entwickelt werden, welches das einzubringende *CD40L*-Gen unter die Kontrolle eines geeigneten Promotors stellt.

1.2.3 Kombinierte Immundefekte

1.2.3.1 Allgemeine Einführung zu den Krankheitsbildern

Als kombinierte Immundefekte (combined immunodeficiencies, CID) faßt man eine Gruppe von genetischen Erkrankungen zusammen, bei denen die Entwicklung und/oder die Funktion der T-Zellen gestört sind. Die B-Zell-Funktion kann direkt oder indirekt über den Ausfall der T-Zell-vermittelten Aktivierung betroffen sein (Übersicht bei Le Deist u. Fischer [1996]). Die einzelnen Entitäten sind sehr selten. Die Inzidenz aller dieser Erkrankungen beträgt insgesamt 1:50.000–1:100.000 Lebendgeburten [Stephan et al. 1993]. Der schwere kombinierte Immundefekt (severe combined immunodeficiency, SCID) stellt die Extremvariante der CID dar, bei der die Immunfunktionen praktisch vollständig fehlen. Der X-chromosomale schwere kombinierte Immundefekt (XSCID) macht mit etwa 30–40% den Großteil der SCID-Erkrankungen aus, gefolgt von jeweils etwa 10–15% Adenosin-deaminasemangel und den Defekten der Rekombinase-aktivierenden Gene. Die klassische Einteilung, die immunophänotypischen Kriterien folgt, macht zunehmend einer Einteilung Platz, die sich an pathogenetischen Gesichtspunkten orientiert und auch von uns aufgegriffen wird (Tabelle 1.2.1). Ohne eine Immunrekonstitution durch eine Knochenmark- oder Stammzelltransplantation ist die Prognose der Kinder mit wenigen Ausnahmen (s. Kapitel 1.2.3.3.2.3 „Diagnose und Therapie“) als infaust anzusehen.

1.2.3.1.1 Klinik

Die klinische Präsentation ist relativ einheitlich. Während der Schwangerschaft, unter der Geburt und in den ersten Lebenswochen bestehen in der Regel keine Krankheitssymptome. Die Mehrzahl der Säuglinge entwickelt ab dem 2. bis 3. Lebensmonat Symptome, wobei Infektionskomplikationen das auffälligste Merkmal der (S)CID-Erkrankungen darstellen. Eine hohe Neigung zu opportunistischen Infektionen (*Pneumocystis carinii*) ist vorhanden. Die verschiedenen (S)CID-Formen unterscheiden sich nicht in Art und Häufigkeit der Infektionen, auch wenn sie bei einer ADA-Defizienz früher in Erscheinung treten können [Stephan et al. 1993]. Das Krankheitsbild ist beinahe stereotyp, geprägt durch chronisch persistierende Symptome im Bereich der Atemwege, akute Pneumonien, therapieresistente mukokutane Candidiasis, ekzematöse Hautveränderungen, Pruritus, häufig Alopezie und lokale oder systemische bakterielle Infekte (Otitis media, Mastoiditis, eitrige Rhinitis und Konjunktivitis, Hautabszesse, Sepsis, Meningitis und Arthritis). Die rekurrenden Infektionen führen in zunehmendem Maß zu klinisch nicht beherrschbaren Gedeihstörungen bei chronischen Enteritiden. Intrazelluläre Organismen wie Listerien und Legionellen können ebenso wie Viren, v.a. der Herpesgruppe (EBV, CMV), zu letalen Komplikationen führen.

Lebendimpfungen können von gravierenden Nebenwirkungen begleitet werden. Eine generalisierte Impftuberkulose bei routinemäßiger BCG-Impfung kann tödlich verlaufen [Stephan et al. 1993], die orale Poliovakzination kann zur persistierenden Virusausscheidung im Stuhl führen.

Nicht infektiöse klinische Manifestationen werden oft durch eine „graft-versus-host-disease“ (GVHD) verursacht. Die Patienten sind nicht in der Lage, allogene Zellen abzustößen. Allogene Zellen bei diesen Kindern lassen sich entweder auf materne Lymphozyten oder Transfusionsprodukte zurückführen. Mit molekularen Nachweisverfahren können bei über 50% der (S)CID-Patienten (Ausnahme: ADA) mütterliche Zellen identifiziert werden [Fromenberget al. 1983, Knobloch et al. 1991]. Die materalen Lymphozyten zeigen einen normalen, teilweise aktivierten Phänotyp. Sie rufen eine relativ milde GVHD mit Hauterscheinungen, Eosinophilie, selten Enteritis und erhöhten Leberenzymen hervor. Fatale Verläufe sind nicht bekannt. Im Gegensatz dazu können durch Applikation nicht bestrahlter Transfusionsprodukte häufig tödlich verlaufende GVHD ausgelöst werden.

Die GVHD zeigt sich dabei 2–4 Wochen nach der Applikation der Produkte und manifestiert sich in einer diffus nekrotisierenden Erythrodermie, Ablösungen der Mukosa, einer Zerstörung des Gallenwegendothels und selten im Untergang des Knochenmarkstromas.

Nach einer Konsanguinität der Eltern muß gezielt gefragt werden. Eine bezüglich dieser Krankheitsgruppe leere Familienanamnese besitzt insofern keine Aussagekraft, als die (S)CID-Erkrankungen häufig sporadisch auftreten. Die körperliche Untersuchung zeigt neben den ungewöhnlichen, infektsbedingten Krankheitszeichen charakteristische Befunde v.a. der lymphatischen Organe auf. In den allermeisten Fällen fehlen die zervikalen Lymphknoten ebenso wie die Tonsillen. Sehr selten kommt es zu einer Lymphadenopathie, der eine pathologische Proliferation nicht lymphozytärer Zellen zugrundeliegen kann.

1.2.3.1.2 Diagnostik

Die Laborbefunde spiegeln die hochgradige Störung des lymphatischen Systems bei diesen Erkrankungen wider. Eine Übersicht häufiger und charakteristischer Basis- und Speziallaborbefunde ist in Tabelle 1.2.2 wiedergegeben. Tabelle 1.2.3 faßt den Immunphänotyp bei SCID-Patienten zusammen. Die Besonderheiten der Diagnostik der genetischen Defekte werden bei den einzelnen Krankheitsentitäten abgehandelt.

1.2.3.1.3 Therapie

Bei der Behandlung lassen sich symptomatische, im wesentlichen supportive, von kurativen Maßnahmen abgrenzen. Die präventiven und supportiven Maßnahmen bei (S)CID sind:

1. *Pneumocystis-carinii*-Prophylaxe
 - Trimethoprim/Sulfamethoxazol (Cotrim®)

Tabelle 1.2.2. Laboruntersuchungen und Befunde bei (schweren) kombinierten Immundefekten

Untersuchung	Befund
Basislabor	
Blutbild	Meist Lymphopenie, häufig Eosinophilie und Thrombozytose bei SCID
Röntgenthorax (a.-p./seitlich)	Retrosternalraum meist leer, schmales oberes Mediastinum (Thymushypoplasie)
Sonographie	Thymushypoplasie
Serumimmunglobuline	IgG niedrig/abfallend, IgA und IgM meist fehlend, selten normale Werte
Oberflächenmarkeranalyse der Lymphozyten	T-Zellen meist niedrig/fehlend, falls vorhanden, abnorme Subpopulationsverteilung, B-Zellen variabel, fehlende HLA-Antigen-Expression bei BLS
Hauttestung	Anergie, nur verwertbar bei gesicherter Antigenexposition nach Impfung (DT) oder nach Infektion (z. B. Candidiasis, BCGitis)
Zelluläre Funktion durch Mitogene oder Antigenstimulation	Obligat pathologisch, besonders antigeninduzierte Reaktionen immer abnorm
Spezielle Untersuchungen	
Erweiterte Oberflächenmarkeranalyse der Lymphozyten	Störungen der Expression z. B. der Aktivierungsmarker, des T-Zell-Rezeptorkomplexes, der common- γ -chain (γ_c)
Erweiterte Funktionsanalyse der Lymphozyten	NK-Zell-Funktion, lymphozytotoxische T-Zell-Funktion, Lymphokinsynthese
Spezifische Antikörperantwort	
Natürliche Antikörper	Isoagglutinine niedrig/fehlend (bei Gesunden erst ab dem 6. Lebensmonat ansteigend)
Impf- und Infektionsantikörper	Fehlend bzw. kein Anstieg (cave: mütterliche Antikörper, Antikörper nach i.v.-Immunglobulinsubstitution)
HLA-Typisierung	Nachweis fremder (z. B. mütterlicher Zellen), Lymphozyten (T- und B-Zellen) analysieren
Histologie	<i>Lymphknoten:</i> Lymphopenie, Lymphfollikel; <i>Darm:</i> kein lymphatisches Gewebe, Zeichen der GVHD; <i>Haut:</i> Zeichen der GVHD; <i>Knochenmark:</i> keine Plasmazellen
Enzymbestimmungen: ADA/PNP in Erythrozyten	Fehlende Aktivität bei SCID mit ADA/PNP-Mangel (falsch-positive Werte nach Transfusion)
Genetische und molekularbiologische Untersuchungen: (evtl. primäre Fibroblastenlinie bzw. EBV-transformierte B-Zell-Linie anlegen)	s. Befunde bei den einzelnen Krankheitsbildern

2. Pilzprophylaxe
 - Nystatin, Amphotericin
3. Frühzeitige hochdosierte i.v.-Immunglobulingabe
 - Serum-IgG-Spiegel über 5 g/l halten
4. Strenge hygienische Vorsichtsmaßnahmen
 - Einzelpflege in Umkehrisolation
 - Begrenzter Personenkontakt
 - Händedesinfektion, Handschuhe, Kittelpflege, Mundschutz
5. Bei Infektionsverdacht
 - Unverzügliche umfassende Diagnostik (Bakteriologische Kulturen, Viruskultur und DNA-Nachweis, u. U. bronchoalveoläre Lavage, invasive Gewinnung von Gewebe)
 - Nach Diagnostik sofortige i.v., breite antibiotische Behandlung bereits bei Infektionsverdacht
6. Keine Lebendimpfung
 - Bei BCG-geimpften Patienten tuberkulostatische Behandlung auch beim Fehlen von BCGitis-Zeichen
7. CMV- freie Blutprodukte vor Transfusion immer bestrahlen
8. Zügige Überweisung an ein Transplantationszentrum

Diese Maßnahmen dienen dazu, den klinischen Zustand des Patienten so zu stabilisieren, daß eine Knochenmark- (KMT) oder periphere Stammzelltransplantation (PBSCT) durchgeführt werden können. Auf spezifische Komponenten der Therapie weisen wir im Kontext der jeweiligen Krankheitsbilder hin. Bei der Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen zur Rekonstitution einer intakten Immunfunktion ist die Verfügbarkeit ei-

nes HLA-identischen Spenders inzwischen nicht mehr unbedingt notwendig. Durch geeignete Aufbereitung des Transplantats (Entfernung reifer T-Zellen) läßt sich trotz Verwendung eines HLA-haploidentischen Spenders das Risiko einer GVHD mindern oder gar vermeiden. Daher können Eltern oder haploidente Geschwister Stammzellen spenden. Aufgrund des bestehenden Immundefekts der Patienten besteht eine verminderte oder sogar fehlende Fähigkeit, das Transplantat abzustößen, so daß bei einem Teil der Patienten eine Transplantation ohne vorausgehende Konditionierung möglich ist. Die Einzelheiten, die Durchführung und der Erfolg der Transplantation sind von zahlreichen Faktoren abhängig, etwa von der Besonderheit der jeweiligen Erkrankung, der Ausprägung der Immunschwäche, den klinischen Komplikationen zum Zeitpunkt der Transplantation sowie dem jeweils verfügbaren Spender. Die möglichst frühzeitige Durchführung der Transplantation spielt prognostisch die wichtigste Rolle. Die Behandlung erfolgt in speziellen Zentren und kann sich über Monate erstrecken. Die Überlebenschance liegt bei rechtzeitiger Durchführung der KMT/PBSCT für alle Defekte gemittelt bei über 50%.

1.2.3.2 Lymphozytendifferenzierung

1.2.3.2.1 Defekt der Rekombinase-aktivierenden Gene 1 und 2 (RAG1 und RAG2)

Eine Erkrankung mit Agammaglobulinämie und Alymphozytose wurde von Hitzig et al. [1958] beschrieben. Eine Ursache dieser SCID-Form mit komplettem Fehlen aller Lymphozyten ist der Funktionsausfall der Rekombinase-aktivierenden Gene 1 und 2 [Schwarz et al. 1996a,b].

Krankheitsbild

Die Kinder mit dieser autosomal-rezessiv vererbten Form der ID zeigen die klassischen Zeichen der SCID-Erkrankung (s. Kapitel 1.2.3.1.1 „Klinik“). Nicht beherrschbare Infektionen, Diarrhöen und Hautveränderungen stehen im Mittelpunkt des klinischen Bildes. Lymphknoten und Tonsillen können nicht nachgewiesen werden. Im peripheren Blut fehlen B-Zellen (B⁻SCID) und kindliche T-Zellen. In über 50% der Fälle kommt es zum Einwandern mütterlicher T-Zellen. Funktionstüchtige NK-Zellen sind vorhanden. Aufgrund des Fehlens aller Lymphozyten kommt es im Verlauf der Erkrankung nach Verlust der mütterlichen Immunglobuline zur Agammaglobulinämie.

Tabelle 1.2.3. Immunstatus bei SCID-Patienten, bei allen Entitäten müssen vor Erhebung des Lymphozytenstatus kontaminierende mütterliche Zellen im Blut der Patienten ausgeschlossen werden

Defektes Gen	Lymphozytenstatus	Abweichungen
RAG1/2	B ⁻ , T ⁻ , NK ⁺	Oligoklonale T-Zellen
ADA	B ^{low} , T ^{low} , NK ^{+low}	
TAP2	B ⁺ , T ⁺ , (CD8 [↓]), NK ⁺	
CT-II-A	B ⁺ , T ⁺ , (CD4 [↓]), NK ⁺	
RFX5	B ⁺ , T ⁺ , (CD4 [↓]), NK ⁺	
RFXAP	B ⁺ , T ⁺ , (CD4 [↓]), NK ⁺	
ZAP70	B ⁺ , T ⁺ , (CD8 ^{fehlend}), NK ⁺	
IL-2-Defizienz	B ⁺ , T ⁺ , NK ⁺	
γc-Kette	B ⁺ , T ⁻ , NK ⁻	T ⁺ - und NK ⁺ -Varianten
JAK3	B ⁺ , T ⁻ , NK ⁻	

Der Funktionsausfall der RAG-Gene kann in seltenen Fällen inkomplett sein, so daß sich einige wenige Lymphozyten entwickeln. Das klinische Bild unterscheidet sich praktisch aber nicht vom klassischen, alymphozytären SCID. Im Gegensatz zu diesem sind jedoch Lymphknoten und Tonsillen nachweisbar. Im peripheren Blut findet sich dann sowohl in der T-Helferzell-Population als auch in der zytotoxischen T-Zell-Fraktion (charakterisiert durch die Oberflächenantigene CD4 bzw. CD8) eine oligoklonale T-Zell-Population, die durch spezifische Antigene (z. B. Tetanustoxoid) nicht stimuliert werden kann.

In-vivo- und In-vitro-Lymphozytenstimulationstests fallen negativ aus oder sind, wenn keine T-Zellen isoliert werden können, auch nicht indiziert.

Molekularbiologie

Das spezifische Immunsystem erkennt und antwortet auf eine nahezu unbegrenzte Zahl von Antigenen durch die Interaktion mit Immunglobulinen (Ig) oder T-Zell-Rezeptor-Molekülen (TCR-Molekülen), die an der Oberfläche von B- und T-Zellen exprimiert werden.

Jede einzelne Ig- und TCR-Kette besteht jeweils aus 2 funktionellen Domänen: dem konstanten Anteil, der die Funktion des Moleküls vermittelt, und der variablen Domäne, die zur Antigenbindung

beiträgt. Die variablen Domänen der Antigenrezeptoren werden während der Lymphozytenentwicklung aus den genetischen Elementen V (variable), D (diversity) und J (joining) in einem Prozeß, der V(D)J-Rekombination genannt wird, zusammengesetzt [Lewis 1994] (Abb. 1.2.4). Konservierte Rekombinationssignalsequenzen (RSS), die die V-, D- und J-Elemente flankieren, vermitteln die V(D)J-Rekombination. Die RSS bestehen aus einem palindromischen Nukleotidheptamer und einem A-T-reichen Nonamer. Diese beiden Sequenzabschnitte sind durch Platzhalter (Spacer) von 12 oder 23 Nukleotiden getrennt. Die Länge des 12- bzw. 23-Nukleotid-Abstandhalters ist insofern wichtig, als nur ein RSS vom 12-Nukleotid-Typ mit einem RSS von 23 bp rekombinieren kann, eine Restriktion, die als sog. „12-23“-Regel bekannt ist [Ramsden et al. 1994]. Die V(D)J-Rekombination wird durch die kombinierte Wirkung der RAG1- und RAG2-Proteine, die als Endonuklease zusammenwirken, initiiert [Oettinger et al. 1990, Schatz et al. 1989, Van Gent et al. 1995]. RAG1 genügt, um die RSS zu erkennen, wobei das Nonamer das kritische Element für die RSS-spezifische DNA-Bindung von RAG1 ist [Difilippantonio et al. 1996, Spanopoulou et al. 1996]. RAG2 wird in der Folge in den DNA-RAG1-Komplex rekrutiert. Der RAG1-RAG2-Komplex zeigt dann Endonukleaseaktivität [Hiom u. Gellert 1997]. Der 1.

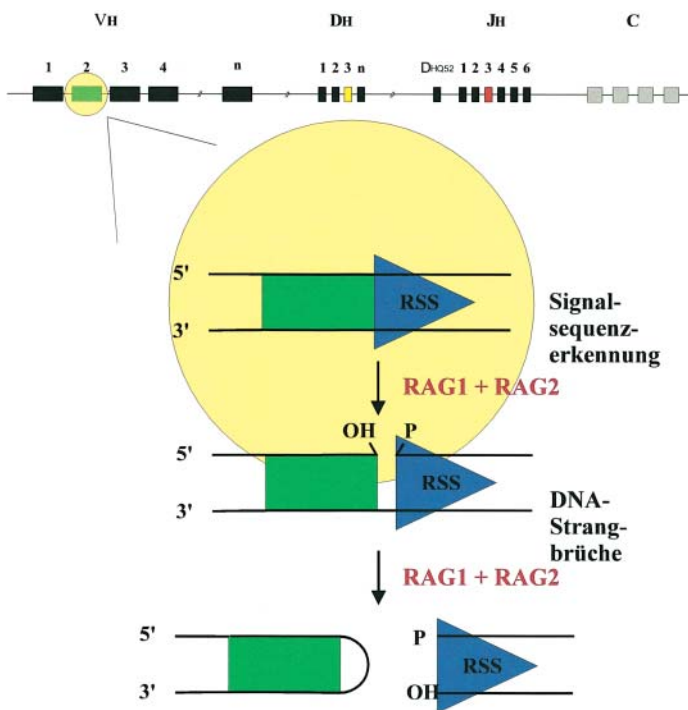


Abb. 1.2.4. Modell der RAG-Funktion. Das Rekombinase-aktivierende Gen 1 (RAG1) erkennt auf der DNA spezifisch Rekombinationssignalsequenzen (RSS), die kodierende Elemente flankieren. Nach Rekrutierung von RAG2 arbeiten beide Proteine als Endonuklease zusammen und schneiden den kodierenden Strang der DNA. Durch Transesterifizierung wird der DNA-Strang vollends durchtrennt. Zurück bleiben ein zur Haarnadel ligiertes kodierendes Antigenrezeptorgenelement und ein offenes RSS-Ende. Bei SCID-Patienten mit RAG-Defekten kann demnach die V(D)J-Rekombination nicht initiiert werden

Schnitt der DNA erfolgt auf dem kodierenden Strang exakt an der Grenze des RSS-Heptamers zum kodierenden V-, D- oder J-Element. Die bei diesem Schnitt entstehende freie 3'-Hydroxyl-Gruppe attackiert dann den 2. DNA-Strang [McBlane et al. 1996]. Die entstehenden Reaktionsprodukte sind ein kovalent verschlossenes Ende des V-, D- oder J-Elements (Haarnadel, engl. hairpin) und ein 5'-phosphoryliertes Ende der RSS. Die RAG-Proteine fallen anschließend von den V-, D- oder J-Elementen ab, halten aber die RSS-Enden in einem Komplex zusammen [Agrawal u. Schatz 1997]. Enzyme, die ubiquitär im Genom entstehende DNA-Doppelstrangbrüche ligieren, werden rekrutiert, um die bei der V(D)J-Rekombination entstandenen freien DNA-Enden zu reparieren (Übersicht bei Weaver [1995] und Lieber et al. [1997]).

In der Entwicklung eines jeden Lymphozyten kommt es zu Überlebenssignalen, die über einen Prä-B- bzw. Prä-T-Zell-Rezeptor vermittelt werden. Ohne diese Signale überleben B- bzw. T-Vorläuferzellen nicht. Die schwere Kette des IgM-Moleküls und die β -Kette des TCR bilden einen notwendigen Bestandteil des Prä-B- oder Prä-T-Zell-Rezeptors. Bei einem Defekt der RAG-Gene kann die V(D)J-Rekombination nicht initiiert werden, folglich können keine IgM-schwere-Ketten und keine TCR- β -Ketten gebildet werden. Die Vorläuferlymphozyten empfangen kein Signal über ihre Prä-B- bzw. Prä-T-Rezeptoren und sterben ab. Daraus resultiert die Alynphozytose bei Patienten mit der RAG-Defizienz.

Die humanen *RAG1*- und *RAG2*-Gene sind beide auf Chromosom 11p13 lokalisiert [Oettinger et al. 1992, Schwarz et al. 1994]. Ihre 3'-Enden sind in einem Abstand von etwa 18 kb zueinander orientiert. Beide Gene werden folglich in entgegengesetzter Richtung transkribiert. Ihr kodierender Anteil besteht jeweils aus nur einem Exon. Die 6,6-kb-mRNA von *RAG1* und die 2,2-kb-mRNA von *RAG2* werden in Zellen oder Geweben nachgewiesen, in denen V(D)J-Rekombinations-Aktivität vorhanden ist. Die mRNA kodiert für ein 119-kD (1.043 Aminosäuren) *RAG1* und für ein *RAG2*-Protein mit einem MG von 55.000 (523 Aminosäuren) [Oettinger et al. 1990, Schatz et al. 1989]. Sequenzvergleiche zeigen, daß *RAG1* ein nukleäres Lokalisationssignal, eine Region, die Homologie mit bakteriellen Invertasen und Homöodomäneproteinen aufweist und eine Dimerisierungsdomäne besitzt (Diffilipantonio et al. 1996, Rodgers et al. 1996, Spanopoulou et al. 1996). Das Mutationsspektrum bei RAG-defizienten SCID-Patienten erfaßt Nonsense-, Missense- und Deletionsmutatio-

nen [Schwarz u. Bartram 1996, Schwarz et al. 1996a].

In einem In-vitro-V(D)J-Rekombinations-Versuch, bei dem künstliche Rekombinationssubstrate und die entsprechenden RAG-Gene in eine Vertebraenzelllinie transient kotransfiziert wurden, zeigten alle mutierten RAG-Proteine weniger als 1% Restaktivität [Schwarz et al. 1996a]. Die untersuchten RAG-Mutationen waren alle vererbt, Neumutationen wurden bisher nicht beschrieben.

Diagnose und Therapie

Eine SCID-Erkrankung ohne B-Zellen im peripheren Blut gibt einen ersten Hinweis auf diese Erkrankung. Leider steht derzeit kein einfacher funktioneller Test als Alternative zum aufwendigen molekulargenetischen Mutationsnachweis zur Verfügung.

Die initiale Therapie orientiert sich wie bei allen SCID-Erkrankungen an den präventiven Maßnahmen (Tabelle 1.2.3).

1.2.3.3 Purinstoffwechsel

1.2.3.3.1 Purinnukleosidphosphorylasedefizienz (PNP-Defizienz)

Bei 4% der Patienten, die an einer schweren kombinierten Immundefizienz leiden, beruht die Erkrankung auf einem funktionellem Ausfall der Purinnukleosidphosphorylase. Das Enzym spielt eine entscheidende Rolle im Purinstoffwechsel und sein Fehlen hat v.a. eine progressive T-Zell-Defizienz sowie B-Zell-Dysfunktionen zur Folge [Markert 1991].

Krankheitsbild

Der PNP-Mangel manifestiert sich in der Regel zwischen dem 4. Lebensmonat und dem 2. Lebensjahr und ist charakterisiert durch eine abnehmende Immunreaktivität der Patienten. Es wurden jedoch auch Fälle beschrieben, in denen PNP-Patienten mehrere Jahre (bis zum 6. Lebensjahr) unauffällig geblieben sind. Die PNP-Defizienz äußert sich klinisch in rezidivierenden Infektionen, die durch ein weites Erregerspektrum ausgelöst werden können. Die Infektionen sind denen anderer SCID-Erkrankungen sehr ähnlich und können u.a. Sinusitiden, Pneumonien, Harnwegsinfektionen, Pharyngitiden, Otitiden, Mastoiditiden und Diarrhöen umfassen. Auslöser können Bakterien, Viren und Pilze sein (insbesondere *Bordetella pertussis*, Pseudomonaden, Legionellen, *Haemophilus in-*

fluenzae, *Streptococcus pneumoniae*, CMV, EBV, VZV, Adenoviren, Parainfluenzaviren Typ 2, 3, 4, *Pneumocystis carinii*, Candida). Bei 2/3 aller PNP-defizienten Patienten treten neurologische Störungen auf. Diese sind in ihrem Erscheinungsbild äußerst heterogen und können sowohl spastische Tetraparese, Tetraplegie, Hemiparese, Ataxie, Hyper- und Hypotonie, Hyperaktivität als auch Verzögerungen der körperlichen und intellektuellen Entwicklung umfassen. Zudem treten bei den Patienten gehäuft Autoimmunerkrankungen auf. Vor allem hämolytische Anämien werden des öfteren in Fällen von PNP-Mangel beobachtet. Die PNP-Defizienz ist also eine Erkrankung, die sich durch ein weites Spektrum an klinischen Symptomen auszeichnet, deren wichtigste die wiederkehrenden Infektionen, neurologischen Auffälligkeiten sowie hämolytische Anämien sind. Die humoralen Immunfunktionen sind in der Regel erhalten. Die Antikörperspiegel sind normal. Mit zunehmendem Alter des Patienten häufen sich jedoch die infektiösen Probleme bei gleichzeitig abnehmender T-Zell-Funktion [Markert 1991].

Molekularbiologie

Die Purinnukleosidphosphorylase ist – wie die Adenosindeaminase (ADA) – ein Enzym des Purinstoffwechsels und katalysiert die phosphorolytische Spaltung der Purinnukleoside Inosin und

Desoxyinosin zu Hypoxanthin und Ribose-1-phosphat sowie Guanosin und Desoxyguanosin zu Guanin und Ribose-1-phosphat [Parks u. Agarwal 1972] (Abb. 1.2.5). Ein Mangel an PNP führt zu einer Akkumulation von Desoxyguanosintriphosphat (dGTP), welches die Ribonukleotidreduktase hemmt. Die Ribonukleotidreduktase kann daher dCTP und dTTP, beides Bausteine für die DNA-Synthese, nicht mehr in ausreichender Menge produzieren. Die Folge ist eine Hemmung der DNA-Synthese und damit eine Blockierung der Replikation und der Zellproliferation [Mitchell et al. 1978, Ullman et al. 1979]. Des weiteren bewirkt ein Mangel an PNP eine Verringerung des intrazellulären Guaninspiegels. Guanin ist ein Substrat der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase, die aus Guanin und Phosphoribosylpyrophosphat Guanosinmonophosphat (GMP) synthetisiert, einen Vorläufer des GTP. Bei einer PNP-Defizienz ist dementsprechend auch der intrazelluläre GTP-Spiegel erniedrigt. Die Zelle benötigt GTP aber u. a. zur Aktivierung von G-Proteinen, die für die Signaltransduktion von der Zelloberfläche zum Kern wichtig sind. Ferner dient GTP als Ausgangssubstrat für die Synthese des intrazellulären Botenstoffs zyklisch-GMP (cGMP). Ein Mangel an GTP kann über diesen Weg zur Inhibition von Lymphozytenaktivierung und -differenzierung führen. Auch die neurologischen Störungen bei Patienten

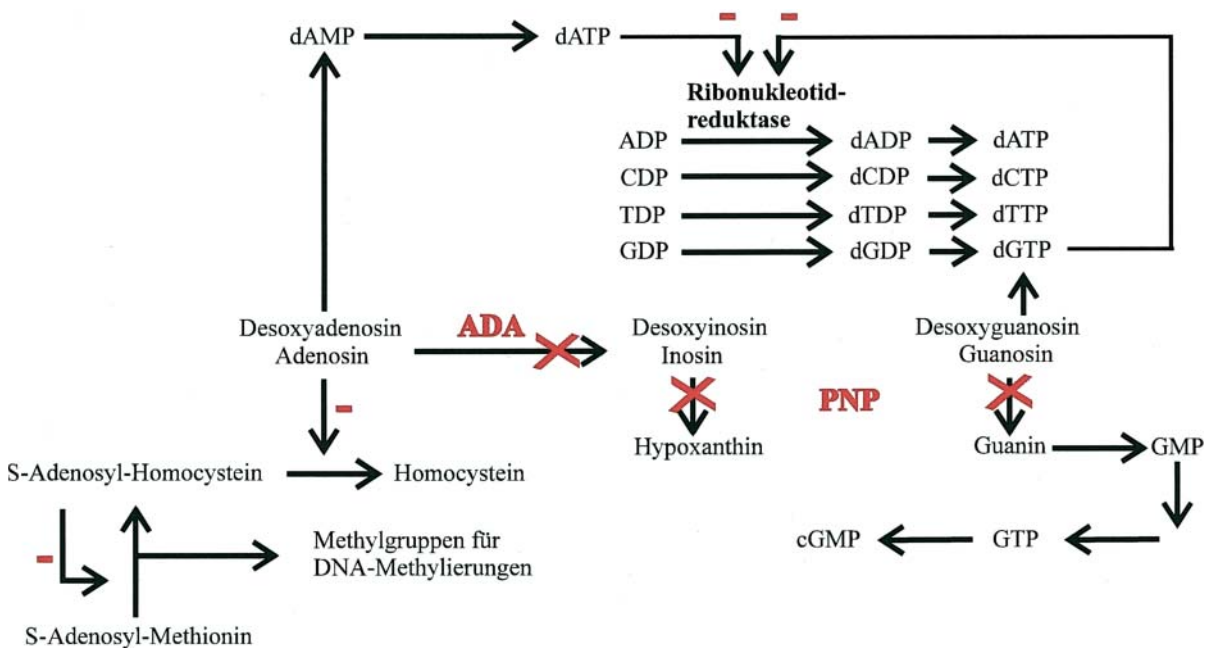


Abb. 1.2.5. Schematische Darstellung des Purinstoffwechsels in Lymphozyten, rot dargestellt sind inhibierende Einflüsse auf Stoffwechselwege bei einer ADA- oder PNP-Defizienz

mit PNP-Mangel lassen sich möglicherweise durch einen erniedrigten GTP-Spiegel erklären. Unklar ist derzeit jedoch noch, ob diese Mechanismen die einzigen biochemischen Ursachen für den kombinierten B- und T-Zell-Defekt sowie die komplexe und heterogene klinische Symptomatik darstellen.

Die PNP-Defizienz wird autosomal-rezessiv vererbt. Das Gen, das für das PNP-Enzym kodiert, ist auf Chromosom 14q13 lokalisiert, umfaßt 6 Exons und erstreckt sich über 9 kb. Die Expression erfolgt ubiquitär und führt zu einer mRNA von 1.418 Nukleotiden Länge [Ricciuti u. Ruddle 1973]. Das Protein besteht aus 289 Aminosäuren. In seiner aktiven Form bildet das Enzym ein Homotrimer, wobei jede Untereinheit eine Substratbindungsstelle aufweist [Williams et al. 1984]. Bislang konnte bei 4 Patienten die molekulargenetische Ursache für den Ausfall des PNP-Enzyms charakterisiert werden. Es fanden sich Punktmutationen [Andrews u. Markert 1992, Aust et al. 1992, Pannicke et al. 1996, Williams et al. 1987], eine Leserasterverschiebung innerhalb der mRNA aufgrund eines Fehlers bei der RNA-Prozessierung [Andrews u. Markert 1992] sowie eine Deletion, die zu einer Leserasterverschiebung innerhalb der mRNA führt.

Diagnose und Therapie

Die sicherste Diagnose einer PNP-Defizienz ermöglicht die Untersuchung der PNP-Enzymaktivität in Erythrozytenlysaten [Dwenger u. Trautschold 1983]. Patienten mit einer PNP-Defizienz weisen einen totalen Verlust dieser Enzymaktivität auf. Einen guten Hinweis auf einen Ausfall der Purinnukleosidphosphorylase geben auch eine erniedrigte Konzentration an Harnsäure in Plasma und Urin sowie eine erhöhte Konzentration an Purinen im Harn.

Eine Substitutionstherapie mit Polyethylenglykol-PNP (PEG-PNP), analog der Therapie beim ADA-Mangel, kann versucht werden. Bis heute stellt jedoch die Knochenmarktransplantation die einzige Langzeittherapie einer PNP-Defizienz dar. Für die Zukunft kann man sich eine Behandlung der PNP-Defizienz mit Hilfe der Gentherapie vorstellen. Die humane cDNA-Sequenz ist bekannt, und das Knochenmark ist für einen Therapieansatz zugänglich. Es ist daher denkbar, die normale cDNA in einem Expressionsvektor in die hämatopoetischen Stammzellen von Patienten einzubringen. Erste Bemühungen in dieser Richtung werden bereits unternommen [Nelson et al. 1995]. Ob durch eine Stammzelltherapie auch langfristig die neurologischen Symptome beeinflussbar sind, müssen klinische Studien zeigen.

1.2.3.3.2 Adenosindeaminasedefizienz (ADA-Defizienz)

Die molekulare Ursache für annähernd 10–15% aller autosomal-rezessiv vererbten Fälle von SCID liegt in einem genetischen Defekt der Adenosindeaminase. Dieses Enzym ist, ebenso wie die Purinnukleosidphosphorylase, am Purinstoffwechsel der Zelle beteiligt.

Krankheitsbild

Ein Mangel an Adenosindeaminase führt zu einer klinischen Symptomatik, die deutlich komplexer ist als bei anderen SCID-Formen. Erste klinische Manifestationen, die mit einem Rückgang der Immunglobulinkonzentrationen einhergehen, ergeben sich meist im 1. Lebensjahr. Bei milderer Formen der ADA-Defizienz zeigen sich 1. Symptome oft aber erst im Jugend- oder gar Erwachsenenalter. Dabei korreliert die Restaktivität der ADA gut mit der sich entwickelnden Lymphopenie. Bei allen Patienten trifft man charakteristischerweise auf eine Lymphopenie, Autoimmunerkrankungen sowie Diarrhöen mit Gedeihstörungen (Übersicht in: Hirschhorn [1990], Notarangelo et al. [1992b]). Morphologisch auffällig ist bei allen Patienten eine Thymusaplasie, die im direkten Zusammenhang mit der mangelnden Immunreaktivität der Patienten steht. Des weiteren ist in der Hälfte der Fälle eine Chondrodysplasia metaphysaria zu beobachten. Paddelförmig aufgeweitete Rippenenden gelten als typisch für die ADA-Defizienz. Zudem wurde bei mehreren Patienten eine herabgesetzte Nierenfunktion beschrieben [Ratech et al. 1985]. Auch Störungen in der Blutgerinnung durch eine Thrombozytopenie können auftreten [Schwartz et al. 1978]. Ein ADA-Defekt kann darüber hinaus zu neurologischen Anomalien führen, die denen bei einer Purinnukleosidphosphorylasedefizienz (s. Kapitel 1.2.3.3.1) vergleichbar sind.

Molekularbiologie

Das Enzym Adenosindeaminase wird in allen Geweben exprimiert und katalysiert irreversibel die Desaminierung von Adenosin und Desoxyadenosin zu Inosin bzw. Desoxyinosin. Eine reduzierte Enzymaktivität führt zu einer Akkumulation der Substrate Adenosin und Desoxyadenosin in der Zelle (Abb. 1.2.5). Desoxyadenosin kann zu Desoxy-ATP (dATP) metabolisiert werden, welches in einem Feedback-Mechanismus die Ribonukleotidreduktase inhibiert. Dieses Enzym ist an der Synthese von Desoxynukleotiden beteiligt. Seine Blockierung führt daher zu einer Hemmung der DNA-

Synthese, was wiederum einen inhibitorischen Einfluß auf die Lymphozytenproliferation und -differenzierung ausübt. Zudem kann dATP Chromosomenbrüche verursachen und die mRNA-Synthese beeinflussen. Auch das Enzym S-Adenosyl-Homocysteinhydrolase (SAH-Hydrolase) wird durch einen erhöhten intrazellulären Spiegel an Nukleosiden inaktiviert. Die Blockade dieses Enzyms führt zu einer Anhäufung des Substrats SAH, welches in einem Feedback-Mechanismus die Metabolisierung von S-Adenosylmethionin in SAH hemmt. Bei der letztgenannten Umwandlung werden Methylgruppen freigesetzt. Diese stehen in Zellen von ADA-defizienten Patienten dementsprechend nicht in ausreichenden Mengen für essentielle DNA-Methylierungen zur Verfügung. Ein lymphozytenspezifischer Effekt läßt sich jedoch aus der Hemmung der SAH-Hydrolase nicht ableiten. Die Akkumulation von Adenosin in den betroffenen Zellen führt auch zu einer vermehrten Bildung von zyklischem AMP (cAMP). Zyklisch-AMP ist ein intrazellulärer Botenstoff, der die Lymphozytenfunktion mitbestimmt [Hirschhorn 1995]. Die enzymatisch aktive Adenosindeaminase liegt im Zytoplasma der Zelle vor. Eine geringe Menge des Proteins ist aber auch auf der Zelloberfläche von T-Lymphozyten, Fibroblasten und anderen Zellen lokalisiert. Es bildet dort ein Dimer in einem Komplex mit 2 Molekülen des T-Zell-Aktivierungsantigens CD26 [Kameoka et al. 1993]. Somit könnte die Adenosindeaminase auch direkt in die Aktivierung von T-Zellen involviert sein. Ob jedoch neben den hier beschriebenen Mechanismen noch weitere molekulare Vorgänge für die komplexe Symptomatik einer ADA-Defizienz verantwortlich gemacht werden müssen, bleibt zu klären.

Das Gen, das die Adenosindeaminase kodiert, ist auf Chromosom 20 lokalisiert, besteht aus 12 Exons die sich über 32 kb erstrecken und wird ubiquitär exprimiert. Die mRNA umfaßt 1.478 Nukleotide. Das enzymatisch aktive Protein setzt sich aus 363 Aminosäuren zusammen und trägt ein Zinkatom als Kofaktor. Die höchste Enzymaktivität findet man in lymphoiden Geweben, im Gehirn sowie im Gastrointestinaltrakt. Bei der molekulargenetischen Analyse von 60 unabhängigen Chromosomen bei ADA-defizienten Patienten konnten über 30 unterschiedliche Mutationen ermittelt werden [Hirschhorn 1990]. Sowohl Missense-Mutationen, Nonsense-Mutationen, Deletionen als auch Mutationen, die zu Fehlern beim RNA-Spleißen führen, wurden erfaßt. Die Punktmutationen führen zu Aminosäureaustauschen in der Nähe des aktiven Zentrums des Proteins. Konformationsän-

derungen, die entweder die Substratbindung selbst oder aber die Bindung des Kofaktors beeinflussen, führen zu einem Aktivitätsverlust des Enzyms [Wilson et al. 1991]. Die Mehrheit der Patienten weist auf beiden Allelen unterschiedliche Mutationen auf (Compound-Heterozygotie). Dabei kann man Mutationen, die zum Totalverlust der Enzymaktivität führen, von solchen unterscheiden, bei denen eine Restaktivität erhalten bleibt. Letztere führen meist zu einem mildereren Krankheitsverlauf. Man findet sie gehäuft bei Patienten, bei denen die ADA-Defizienz erst in der späten Jugend oder im Erwachsenenalter klinisch auffällig wird. Schon eine Restaktivität der Adenosindeaminase von 10% scheint eine normale Entwicklung und Funktion der T-Zellen zu ermöglichen [Hirschhorn 1990]. Interessanterweise wurde bei 2 Fällen hinsichtlich des ADA-Genlocus ein genetisches Mosaikmuster festgestellt [Hirschhorn et al. 1994, Kurlandsky et al. 1993]. Das Auftreten eines solchen somatischen Mosaiks läßt sich entweder durch eine Reversion der Mutation während der frühen Embryogenese oder durch eine während der Hämat- bzw. Lymphopoese entstandene De-novo-Mutation erklären.

Diagnose und Therapie

Die Diagnose einer ADA-Defizienz kann mittels eines Enzymtests aus Lysaten zahlreicher Zelltypen wie Erythrozyten, Lymphozyten oder Fibroblasten durchgeführt werden. Auch eine pränatale Diagnose durch eine Untersuchung von Amnionzellen oder fetalem Nabelschnurblut ist möglich [Hirschhorn 1992].

Behandlungen durch exogene Enzymsubstitution mit boviner, polyethylengekoppelter Adenosindeaminase werden mit Erfolg durchgeführt. [Hershfield et al. 1987]. Jedoch können ADA-defiziente Patienten derzeit nur durch eine Knochenmarktransplantation kurativ therapiert werden. In jüngster Zeit wurden erstmals gentherapeutische Versuche zur Behandlung humaner ADA-SCID-Fälle unternommen. Dabei wurden 2 unterschiedliche Ansätze zur Rekonstitution des Immunsystems verfolgt:

1. wiederholte Infusion peripherer Lymphozyten, die mit einem Expressionsvektor transfiziert wurden, der eine nicht mutierte ADA-cDNA enthält [Blaese et al. 1995];
2. Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen, die mit einem ADA-Expressionsvektor transfiziert wurden [Bordignon et al. 1995].

Die letztgenannte Behandlung sollte eine kontinuierliche Expression des ADA-Gens in allen abgelei-

teten Zellen ermöglichen. Die ersten positiven Ergebnisse aus diesen initialen Studien wurden publiziert und geben durchaus Anlaß, in gentherapeutischen Verfahren eine effektive Option zur Behandlung dieser Patientengruppe zu sehen.

1.2.3.4 Antigenpräsentation

Die Defekte dieser Gruppe von kombinierten ID lassen sich in 3 Untergruppen einteilen:

1. HLA-Klasse-I-Defekte (Bare lymphocyte syndrome I: BLS I),
2. HLA-Klasse-II-Defekte (BLS II) und
3. Erkrankungen mit HLA-Klasse-I- und -II-Mangel (BLS III).

Für BLS III ist bisher keine genetische Ursache aufgeklärt.

1.2.3.4.1 HLA-Klasse-I-Mangel (bare lymphocyte syndrome I, BLS I) durch Peptidtransporterdefekt (TAP2-Defekt)

Der HLA-Klasse-I-Mangel ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die molekulargenetisch erstmals 1994 in einer konsanguinen marokkanischen Familie beschrieben wurde [De la Salle et al. 1994]. Die HLA-Klasse-I-Genprodukte selbst sind nicht betroffen, ihr Transport zur und ihre Stabilität an der Zelloberfläche sind aber beeinträchtigt.

Krankheitsbild

Die klinischen Auswirkungen dieser Mutation sind bisher nur cursorisch bei einer Familie beschrieben worden. Eine 15jährige Patientin mit chronischen, sinobronchialen bakteriellen Infektionen war der Auslöser, in dieser Familie an einen Immundefekt zu denken. Bei serologischen Untersuchungen wurde eine unauffällige HLA-Klasse-II-Expression bei deutlich reduzierter HLA-Klasse-I-Expression (1–3%) nachgewiesen. HLA-Klasse-Ib-Moleküle (CD1a) wurden in Hautbiopsien normal exprimiert. Die Anzahl der CD4⁺-Zellen im peripheren Blut war unauffällig, die Anzahl der CD8⁺-Zellen reduziert, die der CD4⁺CD8⁺-Zellen erhöht. Die $\gamma\delta$ -T-Zell-Population zeigte eine relative Expansion. Eine zytotoxische CD8⁺-T-Zell-Aktivität war nachweisbar. Obwohl CD3⁺CD16⁺CD56⁺- und CD8⁺-NK-Zell-Zahl normal waren, war die NK-Zell-Aktivität deutlich erniedrigt. Spezifische Antikörper gegen Viren wurden produziert.

Molekularbiologie

Zusammen mit TAP1 bildet TAP2 einen Transporter, der Peptide (Länge: 6–15 Aminosäuren) aus dem Zytosol ins endoplasmatische Retikulum (ER) pumpt. Dieser Weg wird von den meisten zytoplasmatischen Peptiden, die an Klasse-I-Moleküle im ER binden, genutzt [Momburg et al. 1994]. Die TAP-Untereinheiten bilden einen Transmembrankanale mit einer ATP-bindenden Domäne auf der zytosolischen Seite der ER-Membran. Der Peptidtransport ist ATP-abhängig. Im ER binden die Peptide an HLA-Klasse-I-Moleküle, oder sie werden degradiert bzw. ins Zytosol zurückgepumpt [Schumacher et al. 1994]. Unbesetzte Klasse-I-Moleküle werden bei der Bindung bevorzugt [Ortmann et al. 1994]. Erst dieser Komplex aus HLA-Klasse-I-Molekül und Peptid wird stabil auf der Oberfläche einer Zelle präsentiert, während „leere“ HLA-Klasse-I-Moleküle schnell internalisiert und degradiert werden.

Die *TAP1*- und *TAP2*-Gene liegen auf Chromosom 6p21.3 in der Klasse-II-Region des humanen *HLA*-Locus [Monaco 1993]. *TAP2* umfaßt mit 11 Exons 9,4 kb DNA. Die Länge der mRNA ist 2,5 kb und kodiert ein Protein mit einem MG von 70.000 mit 604 Aminosäuren.

Die bisher einzig bekannte Mutation des humanen *TAP2*-Gens führt zu einem prämaturn verkürzten Protein [De la Salle et al. 1994], *TAP2* war dabei im Immunoblot nicht nachweisbar. Eine isoelektrische Fokussierung von immunpräzipitierten Klasse-I-Molekülen zeigte, daß diese nicht sialysiert waren. Dies weist darauf hin, daß die Klasse-I-Moleküle sehr schlecht in das Trans-Golgi-Kompartiment zur weiteren Sialysierung transportiert werden und ein Sialysierungsmangel ihre Instabilität mitbedingt.

Diagnose und Therapie

Die Diagnose erfolgt mit serologischen Methoden. HLA-Klasse-I-Moleküle sind auf peripheren Zellen deutlich reduziert exprimiert (Cave: Eine rein molekulardiagnostische Klasse-I-Analyse hätte diesen Defekt nicht erfaßt). Eine molekulare Diagnose des *TAP2*-Gens ist bei isoliertem HLA-Klasse-I-Verlust angezeigt.

Die supportive Therapie richtet sich nach dem Schweregrad der Infektionen. Aufgrund der geringen Fallzahl dieser Erkrankung ist bisher keine prognostische Aussage möglich, die Indikation für eine hämatopoetische Stammzelltransplantation ist nicht geklärt.

1.2.3.4.2 HLA-Klasse-II-Mangel (BLS II)

Der HLA-Klasse-II-Mangel, oft auch „bare lymphocyte syndrome II“ genannt, ist eine seltene, primäre Immundefizienz. Die Erkrankung wird autosomal-rezessiv vererbt. Sie wurde von Griscelli et al. 1979 erstmals beschrieben und ist durch das vollständige Fehlen der HLA-Klasse-II-Moleküle (HLA-DR, -DP, -DQ) auf der Oberfläche aller Zellarten, die die Klasse-II-Moleküle normalerweise exprimieren, charakterisiert.

Krankheitsbild

Bisher wurden ungefähr 50 Fälle von BLS II beobachtet. Eine Übersichtsarbeit mit 30 Patienten stellte die klinischen und immunologischen Eigenschaften des BLS II zusammen (Übersicht in: Klein et al. [1993]). Der Klasse-II-Mangel führt zu einer SCID-Erkrankung, in der sowohl die zelluläre als auch die humorale Immunantwort gegenüber Fremdanitigen ausfallen. Die Krankheit manifestiert sich im 1. Lebensjahr mit rekurrenden, bronchopulmonalen Infektionen und chronischer Diarrhö, die durch Viren, Bakterien, Pilze und Protozoen verursacht werden kann. Der klinische Verlauf ist oft durch protrahierte Diarrhöen, häufig durch Hepatitis und Cholangitis, virale Meningoenzephalitis und verschiedene Autoimmunphänomene gekennzeichnet. Die mittlere Lebenserwartung beträgt 4 Jahre, der Tod wird oft durch persistierende, nicht beherrschte Enterovirus-, Adenovirus- oder Herpesvirusinfektionen verursacht. Das gesamte Krankheitsbild kann durch den Mangel der antigenspezifischen T-Zell-Aktivierung aufgrund des Klasse-II-Defekts auf Zellen, die diese Moleküle exprimieren sollen, erklärt werden. Die Krankheit kann verschiedene Schweregrade aufweisen. Die T-Zell-Zahl ist normal, die $CD4^+$ -T-Zellen sind in variablem Ausmaß vermindert. Es überrascht, daß T-Zellen überhaupt vorhanden sind, da den gängigen Modellen der positiven Selektion zufolge keine normale $CD4^+$ -Population in der Peripherie auftauchen sollte, wenn keine Klasse-II-Moleküle im Thymus exprimiert sind. Diese Diskrepanz läßt sich evtl. dadurch erklären, daß eine sehr niedrige HLA-Klasse-II-Expression im Thymus ausreicht, die T-Zell-Entwicklung voranzutreiben. Andererseits könnten auch andere Restriktionselemente, z.B. HLA-Klasse-I-Moleküle, die positive Selektion unterstützen (Übersicht in: Davis u. Littman [1994]). Eine $V\beta$ -Analyse der TCR der residuellen $CD4^+$ -T-Zellen mit monoklonalen Antikörpern oder PCR-Strategien zeigt eine Polyklonalität [Lambert et al. 1992, Rieux-Laucat et al.

1995]. Dies ist ein Hinweis darauf, daß eine residuelle HLA-Klasse-II-Expression im Thymus ausreicht, ein normales Repertoire zu gestalten oder daß der $V\beta$ -Gebrauch häufig doch von Selektionsereignissen unabhängig ist.

Antigenspezifische T-Zell-Antworten fehlen *in vivo* und *in vitro*, eine allogene Stimulierbarkeit ist vorhanden. Die Hypogammaglobulinämie ist variabel ausgeprägt und betrifft vornehmlich IgA und IgG₂. Die spezifische Immunglobulinbildung ist gestört.

Molekularbiologie

HLA-Klasse-II-Moleküle sind heterodimere (α - und β -Kette) membranverankerte Glykoproteine, denen eine Schlüsselstellung in der Immunantwort zukommt (Übersicht in: Trowsdale [1993]). Sie präsentieren den $CD4^+$ -T-Zellen Peptide von exogenen Antigenen [Creswell 1994] und sind somit notwendiger Bestandteil in der T-Zell-Aktivierung. Die konstitutive Expression der HLA-Klasse-II-Moleküle ist auf epitheliale Zellen des Thymus und auf professionelle antigenpräsentierende Zellen, wie B-Lymphozyten und dendritische Zellen, beschränkt. In vielen, sonst Klasse-II-negativen Zellen kann die Expression der HLA-Klasse-II-Gene durch Interferon- γ -Stimulation (IFN γ -Stimulation) induziert werden.

Die HLA-Klasse-II-Genexpression ist transkriptionell reguliert. Eine 150-bp-Promotor-Region 5' von der Transkriptionsinitiationsstelle ist ausreichend für die konstitutive und IFN γ -induzierbare

HLA-Klasse II positive B Zelle

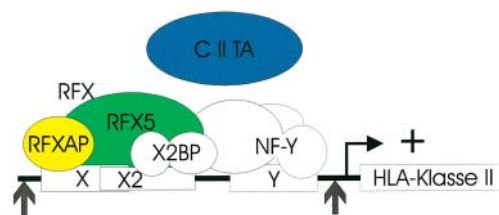


Abb. 1.2.6. Regulation der HLA-Klasse-II-Transkription. Die X-, X2- und Y-Boxen sind mit den Komplexen RFX (bestehend aus RFXAP und RFX5), X2BP und NF-Y besetzt. DNase-I-hypersensitive Stellen (Pfeile) sind vorhanden. Bei Patienten der Komplementationsgruppe A ist der Promotor mit Transkriptionsfaktoren belegt. Es kommt zu keiner HLA-Klasse-II-Transkription, da aufgrund der Mutationen im C-II-TA-Molekül keine Transaktivierung der RNA-Polymerase stattfindet. Patienten der Gruppen C und D sind durch einen Ausfall der DNA-Bindung der RFX-Faktoren RFX5 (Gruppe C) und RFXAP (Gruppe D) charakterisiert. Dies führt zu einem leeren Promotor, da die Kooperation zwischen RFX, XBP2 und NF-Y ausfällt

Transkription [Glimcher u. Kara 1992]. Eine systematische Funktionsuntersuchung hat zur Identifizierung von 3 Promotorregionen, den X-, X2- und Y-Boxen, geführt (Abb. 1.2.6). Diese DNA-Bereiche sind cis-wirkende Elemente, die in allen Klasse-II-Genen vorhanden sind. Alle 3 Sequenzen agieren gemeinsam und werden für eine optimale konstitutive und induzierbare HLA-Klasse-II-Expression benötigt. Aus nukleären Extrakten wurde eine große Zahl von Proteinkomplexen isoliert, die mit den X-, X2- und Y-Boxen des HLA-Klasse-II-Promotors interagieren, so u. a. der X-Box-bindende Faktor RFX, der X2-Box-bindende Komplex X2bp und der Faktor NF-Y, der an die Y-Box bindet (Übersicht in Mach et al. [1996], Steimle et al. [1996]). In vivo erfolgt die DNA-Bindung der Proteine an die X-, X2- und Y-Box koordiniert. Alle 3 Boxen sind in HLA-Klasse-II-exprimierenden B- und IFN γ -induzierten Zellen besetzt, nicht jedoch in Klasse-II-negativen Zellen [Kara u. Glimcher 1991].

Der HLA-Klasse-II-Mangel ist ein Defekt der Genregulation und wird durch Störungen in transaktivierenden Faktoren ausgelöst. Zellbiologische und biochemische Studien zeigen, daß bei BLS-II-Patienten keine Klasse-II-RNA exprimiert bzw. keine Transkription initiiert wird [Lisowska-Groszpiere et al. 1985, Reith et al. 1988] und folglich Klasse-II-Moleküle weder auf der Oberfläche noch intrazellulär nachzuweisen sind. In primären Fibroblastenkulturen von BLS-II-Patienten kann die HLA-Klasse-II-Expression durch IFN γ nicht stimuliert werden [De Préval et al. 1988]. Die Expression aller HLA-DR-, -DQ- und -DP- α und - β -Ketten ist reduziert [Lisowska-Groszpiere et al. 1985], eine Beobachtung, die eher gegen einen Defekt eines *HLA-Locus-Gens* spricht. In Familienstudien segregiert der Defekt unabhängig vom *HLA-Locus* [De Préval et al. 1985]. Fusionsexperimente mit Zelllinien von BLS-Patienten und *in vitro* erstellten regulatorischen Varianten von HLA Klasse II zeigten, daß mehrere Komplementationsgruppen existieren (A–E) (Tabelle 1.2.4) (Übersicht in: Mach

et al. [1996]). Die meisten der Patienten fallen in die Gruppen A–C, wobei Gruppe B 50% aller Fälle umfaßt. Die Mehrzahl der Gruppe-B-Patienten kommt aus Nordafrika und der Türkei, während die Patienten der Gruppe A aus Spanien stammen [Lisowska-Groszpiere et al. 1994]. Einzelbeschreibungen von Varianten des HLA-Klasse-II-Mangels, die sich nicht in das bisherige Schema einordnen lassen, weisen darauf hin, daß noch zusätzliche regulatorisch wirkende Proteine betroffen sein könnten [Mach et al. 1996].

Bei der Untersuchung von BLS-II-Patienten können 2 verschiedene biochemische Phänotypen unterschieden werden (Tabelle 1.2.4). Der Mehrzahl der Patienten ist die Fähigkeit verlorengegangen, mit dem regulatorischen Faktor X (RFX) die X-Box des Promotors zu binden [Mach et al. 1996, Steimle et al. 1996]. Bei den restlichen Patienten ist die Bindung des RFX an den Klasse-II-Promotor normal. Diese Beobachtung wird durch die Ergebnisse von Footprint-Analysen und durch die Kartierung DNase-hypersensitiver Sequenzen in Klasse-II-Promotoren unterstützt (Tabelle 1.2.4, Abb. 1.2.6). Die biochemische Einteilung des Defekts korreliert mit den verschiedenen BLS-II-Komplementationsgruppen. BLS-II-Zelllinien der Gruppe B, C und D zeigen einen Verlust der RFX-Bindung an DNA, während die Zellen der Gruppe A eine normale RFX-bindende Aktivität aufweisen.

Klasse-II-Transaktivator (C-II-TA). Der HLA-Klasse-II-Transaktivator (C-II-TA) wurde durch genetische Komplementation identifiziert [Steimle et al. 1993]. Mutationen in diesem Gen wurden in allen untersuchten Zellen der Gruppe A entdeckt und umfassen Deletionen, Punktmutationen und Spleißdefekte [Bontrou et al. 1997, Steimle et al. 1993]. Keines der mutierten Proteine konnte in einem Expressionsmodell die Präsentation von Klasse-II-Molekülen auf der Zelloberfläche induzieren. Das *C-II-TA*-Gen ist auf Chromosom 16 lokalisiert, es kodiert eine 4,5 kb lange RNA, die in 1.130 Aminosäuren übersetzt wird. Das Protein enthält

Tabelle 1.2.4. Phänotypische, biochemische und molekulare Defekte der HLA-Klasse-II-Mutanten, *n. u.* nicht untersucht

BLS-II-Komplementationsgruppe	Wildtyp	A	B	C	D	E
HLA-Klasse-II-Expression	+	–	–	–	–	–
HLA-Klasse-II-Promotoraktivität	+	–	–	–	–	<i>n. u.</i>
RFX-Bindung	+	+	–	–	–	<i>n. u.</i>
DNase Hypersensitivität	+	+	–	–	<i>n. u.</i>	<i>n. u.</i>
Promotor mit Protein belegt	+	+	–	–	–	<i>n. u.</i>
Gendefekt		C-II-TA	?	RFX5	RFXAP	?

Motive einer ATP-GTP-bindenden Kasette, es fehlen Ähnlichkeiten mit DNA-bindenden Domänen. Der N-terminale Anteil enthält Sequenzen, die reich an sauren Aminosäuren oder Pro, Ser und Thr sind und die transkriptionsaktivierende Domänen charakterisieren. Die saure Domäne des C-II-TA weist transaktivierende Eigenschaften auf [Zonk u. Glimcher 1995]. C-II-TA scheint ein nicht DNA-bindender Transkriptionsfaktor oder Koaktivator zu sein, der an den Klasse-II-Promotor über Protein-Protein-Wechselwirkungen mit DNA-bindenden Proteinen rekrutiert wird. C-II-TA fungiert als „master regulator“ der HLA-Klasse-II-Expression in allen untersuchten Geweben und Zellen und wirkt als obligater Mediator der HLA-Klasse-II-Expression nach IFN γ -Stimulation [Chang u. Flavell 1995, Mach et al. 1996, Steimle et al. 1994].

Regulatorischer Faktor X5 (RFX5). Über den Ansatz der funktionellen Komplementation wurde auch das *RFX5*-Gen identifiziert, das in allen Zelllinien der BLS-II-Komplementationsgruppe C die HLA-Klasse-II-Expression restaurieren konnte [Steimle et al. 1995].

Mutationen im *RFX5*-Gen wurden bei allen Patienten der Gruppe C gefunden; sie umfassen Punktmutationen, die zu einem vorzeitigen Stopkodon führen, und Spleißsequenzmutationen, die zum Gebrauch kryptischer Spleißstellen führen bzw. zu Deletionen in der *RFX5*-mRNA.

Das *RFX5*-Gen liegt auf Chromosom 1 und kodiert eine 3,4-kb-mRNA, die in 616 Aminosäuren bzw. ein Protein mit einem Molekulargewicht (MG) von 75.000 übersetzt wird. Das RFX5-Protein enthält ein DNA-Bindungsmotiv mit hoher Homologie zu anderen RFX-Proteinen. RFX5 ist ein Faktor des RFX-Komplexes, welcher an die X-Box der HLA-Klasse-II-Promotoren bindet. In RFX-defizienten BLS-Zellen sind sowohl die X- als auch die X2- und Y-Box nicht besetzt. RFX bindet in vitro an X2-bp und NF-Y, die Faktoren, die die X2- und Y-Box besetzen [Reith et al. 1994a,b]. Ein Defekt im *RFX5*-Gen und somit ein funktioneller Ausfall von RFX in BLS-Zellen ist folglich für diesen unbesetzten Promotor verantwortlich (Abb. 1.2.6). In vivo fungiert RFX somit als zentraler Faktor, der NF-Y und X2-bp an ihre jeweiligen Boxen über eine kooperative Protein-Protein-Wechselwirkung bindet.

RFX-assoziiertes Protein (RFXAP). RFXAP wurde biochemisch isoliert und anschließend kloniert [Durand et al. 1997]. Der Faktor stellt die 36.000-Untereinheit von RFX dar, interagiert in vivo

schwach mit RFX5 und restauriert die HLA-Klasse-II-Expression in Zelllinien der Komplementationsgruppe D. Eine Deletion, die zu einer Leserasterveränderung mit prämaturom Stopkodon führt, definiert die einzige bisher gefundene homozygote Mutation in Zellen eines BLS-Patienten. Das Gen kodiert eine cDNA von 2,7 kb Länge. RFXAP5 enthält keine RFX-Domäne, jedoch 3 auffällige Regionen; ein Bereich saurer Aminosäuren und eine Glutaminregion erinnern an transaktivierende Domänen, eine basische Domäne repräsentiert eine nukleäre Lokalisationssequenz.

RFXAP und RFX5 können nach In-vitro-Translation als Komplex nicht an die X-Box eines Klasse-II-Promotors binden [Durand et al. 1997], so daß ein oder mehrere weitere Faktoren notwendig zu sein scheinen, die diese Bindung unterstützen.

Diagnose und Therapie

Die Diagnose wird durch die Analyse der HLA-DR-, -DQ- und -DP-Moleküle auf der Zelloberfläche von B-Zellen und Monozyten und nach IFN γ -Aktivierung auf T-Zellen und Fibroblasten gestellt. Die HLA-Klasse-II-Genexpression fehlt bei BLS-II-Patienten. Mit einer molekularen Analyse der HLA-Klasse-II-Gene kann dieser ID jedoch nicht diagnostiziert werden, da transaktivierende Faktoren ausfallen. Zellfusionsexperimente erlauben die Eingruppierung in eine der Komplementationsgruppen und grenzen das jeweilige mutierte Gen, das molekular charakterisiert werden muß, ein.

Die Therapie der Wahl stellt die Transplantation von Knochenmark oder peripheren Stammzellen dar.

1.2.3.5 Signaltransduktionsdefekte

1.2.3.5.1 CD3-Defizienzen

Eine weitere Untergruppe der B⁺T⁺-SCID-Erkrankungen bilden die CD3-Defizienzen. Sie sind durch ein Fehlen des für T-Zellen charakteristischen TCR-CD3-Komplexes auf ihrer Oberfläche gekennzeichnet. Die Erkrankung wurde zuerst von Regueiro et al. [1986] beschrieben, inzwischen wurden in je einer Familie Mutationen im *CD3 γ* - und *CD3 ϵ* -Gen charakterisiert [Arnaiz-Villena et al. 1992, Soudais et al. 1993].

Krankheitsbild

Der einzige beschriebene Patient mit *CD3 ϵ* -Defizienz zeigte, wie alle SCID-Patienten, einen Defekt der zellularen und humoralen Immunität, der je-

doch relativ schwach ausgeprägt war [Le Deist et al. 1991]. Er wies im Alter von 2 Jahren chronische Infektionen auf. Die Gesamtzahl der Lymphozyten im peripheren Blut war normal, die Anzahl der $CD4^+$ -T-Zellen war reduziert. Auf allen T-Zellen war die Expression des TCR-CD3-Komplexes stark reduziert (auf etwa 10%). Ihre Funktionsstörung stellte sich durch ein Fehlen der zytotoxischen T-Zell-Aktivität und der proliferativen Antwort nach Stimulation mit anti-CD3- und anti-CD2-Antikörpern dar. Die B-Zell-Funktion war prinzipiell erhalten, der Immunglobulinspiegel normal, jedoch konnte der Patient gegen einige Proteinantigene keine Antikörper bilden. Die Immunantwort gegen Polysaccharide war eingeschränkt. In der einzigen beschriebenen Familie mit $CD3\gamma$ -Defizienz zeigten die beiden betroffenen Brüder stark unterschiedliche Phänotypen [Alarcon et al. 1988, Arnaiz-Villena et al. 1991, 1992]. Ein Junge wies einen klassischen SCID-Phänotyp mit chronischen Infektionen und Gedeihstörungen auf und verstarb im Alter von 31 Monaten, während der andere mit 11 Jahren noch gesund war und lediglich eine erhöhte Anfälligkeit gegen Atemwegsinfektionen zeigte. Die Anzahl der Lymphozyten im peripheren Blut war normal, lediglich die $CD8^+$ -T-Zell-Subpopulation war erniedrigt. Weiterhin repräsentierten die meisten T-Zellen im peripheren Blut $CD45RO^+$ -Gedächtnis-T-Zellen, die Anzahl der naiven $CD45RA^+$ -T-Zellen war sehr gering [Timon et al. 1993]. Analog der $CD3\epsilon$ -Defizienz war auch bei der $CD3\gamma$ -Defizienz eine geringere Anzahl von TCR-CD3-Komplexen auf der Oberfläche der T-Zellen nachweisbar (etwa 50%). Die B-Zell-Funktion war gewährleistet, der Immunglobulinspiegel normal, der IgG_2 -Spiegel jedoch stark reduziert. Die Impfantwort auf Proteinantigene war unauffällig, die gegenüber Polysacchariden jedoch eingeschränkt. Auffällig war, daß die beiden betroffenen Brüder trotz der gleichen genotypischen Charakteristika eine so unterschiedlich schwere Ausprägung der Immundefizienz zeigten. Eine ähnliche intrafamiliäre Heterogenität des klinischen Phänotyps ist auch von anderen monogenen Erbkrankheiten bekannt. Als Erklärung wird hier der Einfluß zusätzlicher Defekte in anderen Genen diskutiert oder auch die Relevanz endogener oder exogener Modifikatoren.

Molekularbiologie

Die Ursache des Immundefekts ist ein Funktionsdefekt der T-Zellen, der durch ein Fehlen des TCR-CD3-Komplexes auf ihrer Oberfläche entsteht. Dieser Proteinkomplex ist für die Erkennung von

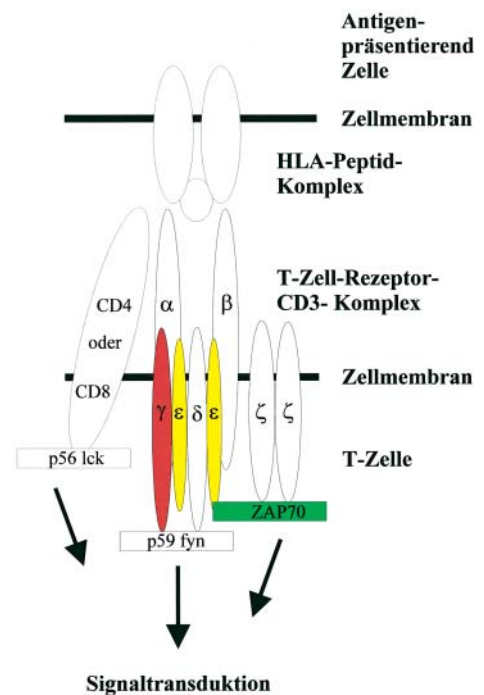


Abb. 1.2.7. Schema des T-Zell-Rezeptor-CD3-Komplexes. HLA-Moleküle präsentieren dem T-Zell-Rezeptor ein Antigenpeptid. Der T-Zell-Rezeptor besteht aus α - und β -Kette sowie Komponenten des CD3-Komplexes. Diese koppeln über zytoplasmatische Proteinkinasen (z. B. ZAP70) das externe Signal an die intrazytoplasmatischen Signalwege. Bei den bekannten CD3-Defizienzen wird der T-Zell-Rezeptor-CD3-Komplex nicht an der T-Zell-Oberfläche exprimiert, da entweder $CD3\gamma$ (rot) oder $CD3\epsilon$ (gelb) nicht hergestellt werden kann. Der ZAP70-Defekt ist durch den Wegfall des ZAP70-Signals (grün) innerhalb der Signalkaskade charakterisiert

HLA präsentierten Antigenpeptiden zuständig. Er ist aus einem $\alpha\beta$ - bzw. $\gamma\delta$ -Heterodimer, dem TCR (T-Zell-Rezeptor), einem $\zeta\zeta$ - bzw. $\zeta\eta$ -Dimer und dem CD3-Komplex, der von den $CD3\gamma$ -, $CD3\delta$ - und $CD3\epsilon$ -Untereinheiten gebildet wird, zusammengesetzt [Chan et al. 1994 a] (Abb. 1.2.7). Alle beteiligten Proteine sind in der Membran verankert, die extrazelluläre Domäne der $\alpha\beta$ - bzw. $\gamma\delta$ -Dimerie ist für die Antigenerkennung zuständig. Die intrazellulären Domänen von $CD3\gamma$, $CD3\delta$, $CD3\epsilon$, ζ und η sind für das Anschalten intrazellulärer Signalwege verantwortlich. Nach Erkennung eines präsentierten Antigens werden die mit dem T-Zell-Rezeptor-Komplex assoziierten Kinasen Lck, Fyn, ZAP70 (und Syk) von diesen intrazellulären Domänen aktiviert. Nach weiteren Schritten der Signalkaskade wird die Transkription von IL-2 und weiteren Genen angeschaltet, was schließlich zur Aktivierung, Differenzierung und Proliferation der

T-Zelle führt. Bei den betroffenen Patienten fehlt ein funktioneller TCR-CD3-Komplex auf der Oberfläche der T-Zellen, so daß diese nicht in der Lage sind, von HLA-Molekülen anderer Zellen präsentierte Antigene zu erkennen und eine nachfolgende Immunantwort auszulösen. Bei Stimulation dieser defekten T-Zellen mit Mitogenen werden die intrazellulären Signalkaskaden über alternative Wege ausgelöst. Die von Arnaiz-Villena et al. [1992] beschriebenen Mutationen des *CD3 γ* -Gens betreffen auf einem Allel eine Spleißakzeptorsequenz und auf dem 2. Allel das ATG-Startkodon. Die von Soudais et al. [1993] charakterisierten Mutationen des *CD3 ϵ* -Gens führen zu einer sehr stark reduzierten Transkriptionsrate auf etwa 5% und basieren auf einem vorzeitigen Stopkodon in Exon 6 sowie einer Mutation der Spleißdonorsequenz am Anfang von Intron 7. Dies bedeutet, daß kaum *CD3 γ* - bzw. *CD3 ϵ* -Proteine synthetisiert werden und dementsprechend kein funktioneller TCR-CD3-Komplex auf der Zelloberfläche reifer T-Zellen erscheinen kann. Das Vorhandensein unterschiedlicher T-Zell-Subpopulationen im peripheren Blut weist darauf hin, daß in der T-Zell-Entwicklung für die Differenzierungsschritte von $CD4^+CD8^+$ - zu $CD4^+$ - bzw. $CD8^+$ -Zellen CD3-Komplexe eine Rolle spielen, in denen auf *CD3 γ* bzw. *CD3 ϵ* verzichtet werden kann [Kappes et al. 1995]. Abschließend muß erwähnt werden, daß aufgrund der Redundanz von Funktionen und Signalwegen des Immunsystems die beschriebenen T-Zell-Defekte z. T. kompensiert werden können und deswegen unter günstigen Bedingungen nur zu einem milden Phänotyp führen.

Die Vererbung der CD3-Defizienzen erfolgt autosomal-rezessiv. Die genomische Organisation des *CD3 γ* -Gens mit 7 Exons, die auf 9 kb verteilt liegen, wurde von Tunnacliffe et al. [1987] ermittelt. RNA-Transkripte von 0,8 kb bzw. 3,5 kb werden in ein Protein mit einem MG von 25.000 translatiert. Das *CD3 ϵ* -Gen wurde von Gold et al. [1986] isoliert. Der genomische Locus besteht aus 9 Exons und umspannt etwa 12 kb [Clevers et al. 1988], er wird zu einer 1,4-kb-mRNA transkribiert, welche ein Protein mit einem MG von 20.000 kodiert. Die Gene *CD3 γ* , *CD3 δ* und *CD3 ϵ* liegen in einem gemeinsamen Cluster auf Chromosom 11q23 innerhalb von 60 kb, wobei *CD3 γ* und *CD3 δ* lediglich 1,4 kb voneinander entfernt liegen und in entgegengesetzter Richtung transkribiert werden [Evans et al. 1988, Tunnacliffe et al. 1988]. Diese Anordnung läßt eine gemeinsame transkriptionelle Regulation während der T-Zell-Ontogenese und -Aktivierung vermuten.

Diagnose und Therapie

Erste Indizien für die Immundefekte liefern chronische Infektionen der betroffenen Patienten. Die Analyse der Expression von TCR/CD3 auf der T-Zell-Oberfläche gibt einen wegweisenden Hinweis auf CD3-Defizienzen. Aufgrund der reduzierten Anzahl an $CD4^+$ - oder $CD8^+$ -T-Zellen kann zwischen der *CD3 ϵ* - und *CD3 γ* -Defizienz unterschieden werden. Die Funktionalität der T-Zellen wird durch Stimulationsexperimente mit Antikörpern, Mitogenen und spezifischen Antigenen nachgewiesen.

Auch bei den CD3-Defizienzen ist neben den supportiven Maßnahmen die derzeit einzige Therapie die Knochenmarktransplantation. Da die Gene bzw. Proteine, deren Defekte zu den CD3-Defizienzen führen können, bekannt sind, sind die molekulare Detaildiagnostik und auch die Analyse des Überträgerstatus von Familienmitgliedern möglich.

1.2.3.5.2 Defekt des ζ -Ketten assoziierten Proteins (ZAP70-Defekt)

In unmittelbarem Zusammenhang mit den CD3-Defizienzen stehen die ZAP70-Defekte, ebenfalls eine Untergruppe der B^+T^+ -SCID-Erkrankungen. ZAP70 ist eine Tyrosinkinase, die direkt mit den intrazellulären Domänen des T-Zell-Rezeptorkomplexes interagiert. Roifman et al. [1989] beschrieben als erste einen Patienten, dessen T-Zellen zwar den TCR-CD3-Komplex auf der Oberfläche trugen, der aber nur $CD8^+$ -T-Zellen im peripheren Blut aufwies. Von Arpaia et al. [1994] wurden Mutationen im ZAP70-Gen als genetische Ursache dieses T-Zell-Defekts identifiziert.

Krankheitsbild

Das Krankheitsbild ist durch Gedeihstörungen und chronische Infektionen gekennzeichnet. Die Anzahl der Lymphozyten im peripheren Blut der Patienten ist normal bis erhöht. Die T-Zellen sind alle der $CD4^+$ -Subpopulation zuzuordnen, während $CD8^+$ -T-Lymphozyten vollständig fehlen. Die $CD4^+$ -T-Zellen weisen ferner einen funktionellen Defekt auf, der sich im Ausbleiben der Proliferation nach Stimulation über den TCR-CD3-Komplex zeigt. Eine Mitogenstimulation, die die Membran umgeht (etwa Phorbol ester mit Kalziumionophoren), ist hingegen normal. Die B-Zell-Zahl sowie die Immunglobulinspiegel liegen im Normbereich. Die T-Helferzell-abhängige B-Zell-Antwort ist aufgrund einer fehlenden Aktivierbarkeit von $CD4^+$ -T-Zellen beeinträchtigt.

Molekularbiologie

Ebenso wie bei den CD3-Defizienzen liegt die Ursache der Erkrankung in einem T-Zell-Funktionsdefekt, der die Signaltransduktion über den TCR-CD3-Komplex betrifft. Der Aufbau des T-Zell-Rezeptorkomplexes und die Funktion seiner Unter-einheiten wurden schon im Kapitel 1.2.3.5.1 „CD3-Defizienzen“ beschrieben (Abb. 1.2.7). Nach der Erkennung eines präsentierten Antigens wird in der T-Zell-Aktivierung initial die Lck-Kinase aktiviert, die mit der intrazellulären Domäne des CD4- bzw. CD8-Korezeptors assoziiert ist. Als Folge werden die Tyrosine in den ITAM (immunoreceptor tyrosine-based associated motifs) der CD3 ϵ - und ζ -Membranproteine phosphoryliert. In der phosphorylierten Form stellen diese Aminosäuremotive Bindungsstellen für die SH2-Domänen der Syk- und ZAP70-Kinase dar (Abb. 1.2.7). Die an ζ und CD3 ϵ gebundenen ZAP70-Proteine werden dann zum einen phosphoryliert (wahrscheinlich ebenfalls durch Lck), zum anderen phosphorylieren sie mit ihrer Kinasedomäne nachgeschaltete intrazelluläre Signalmoleküle und aktivieren so Vav, Phosphatidylinositol-3-Kinase und Phospholipase C $_{\gamma 1}$ [Elder 1996, Hivroz u. Fischer 1994]. Die bisher in 3 Familien identifizierten Mutationen im ZAP70-Gen betreffen alle die Kinasedomäne und resultieren in einer Instabilität des Proteins [Arpaia et al. 1994, Chan et al. 1994b, Elder 1996, Elder et al. 1994]. Die Abwesenheit der ZAP70-Kinase führt in den T-Zellen der Patienten zu einer Unterbrechung des Signalwegs unmittelbar nach der Bindung des präsentierten Antigenpeptids an den T-Zell-Rezeptor-Komplex, d.h. die Peptide werden zwar korrekt erkannt, das vermittelte Signal wird jedoch intrazellulär nur partiell weitergeleitet. Damit erfolgt die Aktivierung der T-Zelle nur unvollständig. Dieser Effekt wirkt sich nicht nur in der Immunantwort reifer T-Zellen, sondern ebenso wie bei den CD3-Defizienzen auch in der Ontogenese der T-Zellen aus. Es können offensichtlich keine zytotoxischen T-Zellen gebildet werden, die positive Selektion der CD8-Thymozyten ist gestört, während die CD4 $^{+}$ -T-Zellen zwar positiv selektioniert, jedoch nicht aktiviert werden können.

Die Vererbung der ZAP70-Defekte erfolgt autosomal-rezessiv. Die ZAP70-cDNA wurde von Chan et al. [1992] kloniert und das Gen auf dem Chromosom 2q12 lokalisiert [Chan et al. 1994b]. Die genomische Struktur des Gens wurde noch veröffentlicht. ZAP70 kodiert für eine 2,6-kb-RNA, die in ein Protein mit einem MG von 70.000 übersetzt wird.

Diagnose und Therapie

Aufgrund der Anfälligkeit gegenüber chronischen Infektionen sowie den Gedeihstörungen kann die Erkrankung bei Kindern als Immundefekt erkannt werden. Die Analyse der Lymphozyten zeigt eine weitgehend normale Anzahl im peripheren Blut. Die Anwesenheit von TCR-CD3-Komplexen auf der Oberfläche der CD4 $^{+}$ -T-Zellen in Kombination mit dem Fehlen der CD8 $^{+}$ -T-Zell-Subpopulation weist auf einen Defekt der ZAP70-Kinase in differential-diagnostischer Abgrenzung zur CD3 γ -Defizienz hin. Der funktionelle T-Zell-Defekt lässt sich durch das Fehlen der Proliferation nach Stimulation von Anti-CD3-Antikörpern nachweisen. Auf molekularer Ebene kann das Fehlen von ZAP70-mRNA-Transkripten bzw. ZAP70-Proteinen in T-Zellen durch Northern- bzw. Western-Blots nachgewiesen werden. Die ursächlich verantwortlichen Mutationen werden durch Sequenzanalyse der cDNA bestimmt.

Als Therapie bietet sich wie bei allen klassischen SCID-Erkrankungen nur die Knochenmarktransplantation an. Ein erster Ansatz auf dem Weg zu einer gentherapeutischen Behandlung der Erkrankung wurde von Taylor et al. [1996a] beschrieben. Ihnen gelang es, in T-Zell-Linien betroffener Kinder mit Hilfe eines retroviralen Transfervektors ein intaktes ZAP70-Gen (unter der Kontrolle eines viralen Promotors) einzuführen und damit in vitro den Signaltransduktionsdefekt aufzuheben.

1.2.3.5.3 Interleukin-2-Defizienz (IL-2-Defizienz)

Zu den autosomal-rezessiven SCID-Erkrankungen mit B $^{+}$ T $^{+}$ -Phänotyp gehört die IL-2-Defizienz. Bisher wurden 3 Fälle beschrieben, wobei der molekulare Defekt in keinem der Fälle charakterisiert wurde [DiSanto et al. 1990, Pahwa et al. 1989, Weinberg u. Parkman 1990].

Krankheitsbild

Wie alle SCID-Erkrankungen zeichnet sich auch die IL-2-Defizienz durch einen kombinierten Defekt der zellulären und humoralen Immunität aus. Die betroffenen Kinder zeigen nach dem Rückgang des Schutzes durch materne Antikörper eine starke Anfälligkeit gegenüber chronischen Infektionen sowie Gedeihstörungen, chronischen Diarrhöen und Erythrodermien. Die Anzahl der Lymphozyten im peripheren Blut sowie das Verhältnis der CD4 $^{+}$ - und CD8 $^{+}$ -T-Zell-Subpopulationen sind normal. Alle T-Zellen zeigen jedoch einen Funktionsdefekt, der durch eine reduzierte Proliferations-

fähigkeit der T-Zellen charakterisiert ist, wie sich in vitro durch Stimulation mit PHA nachweisen läßt. Die T-Zell-Proliferation kann durch Zugabe von IL-2 wiederhergestellt werden. Die Immunglobulinspiegel sind sehr niedrig, was vermutlich eine Folge des Funktionsausfalls von CD4⁺-T-Helferzellen ist.

Molekularbiologie

IL-2 ist ein essentieller T-Zell-Wachstumsfaktor, der von T-Zellen produziert wird und die Progression ruhender T-Zellen in den Zellzyklus bewirkt. In T-Zellen der betroffenen Patienten war nach Stimulation mit Mitogenen keine Transkription des *IL-2*-Gens nachweisbar, während die Produktion der nicht T-Zell-spezifischen Zytokine GM-CSF und IL-6 wie bei intakten T-Zellen induziert wurde [Chatila et al. 1990, DiSanto et al. 1990]. Die Störung der IL-2-Produktion führt dazu, daß aktivierte T-Zellen weder sich selbst noch andere T-Zellen über IL-2 zur Proliferation anregen. Durch Zugabe von rekombinantem IL-2 konnte der Proliferationsdefekt korrigiert werden. Diese Resultate zeigen, daß der molekulare Defekt nicht in der Aktivierung durch Mitogene oder, wie bei XSCID, in der Verarbeitung der IL-2-vermittelten Signale, sondern in einer gestörten Transkription des *IL-2*-Gens zu suchen ist. Im Promotor des *IL-2*-Gens liegen Bindungsmotive für die Transkriptionsfaktoren NFAT, OCT1, AP1 und NFκB. Von diesen ist lediglich NFAT ein T-Zell-spezifischer Faktor, der anhand eben dieses Bindungsmotivs im IL-2-Promotor charakterisiert wurde. Bei der von Pahwa et al. [1989] und Chatila et al. [1990] beschriebenen Patientin war neben der Transkription von IL-2 die Transkription von IL-3, IL-4 und IL-5 nicht induzierbar (bei den beiden anderen Patienten nicht untersucht). In Kernextrakten aktivierter T-Zellen dieser Patientin waren keine Proteine enthalten, die an die NFAT-Motive binden und somit die Transkription des *IL-2*-Gens aktivieren können [Castigli et al. 1993]. Der Defekt muß somit im Transkriptionsfaktor NFAT oder seiner Regulation liegen.

Kandidatengene für die multiple Interleukindefizienz, *NFATP* (oder *NTATC2*) und *NFATC* (oder *NFATC1*) wurden von Northrop et al. [1994] kloniert und sind auf Chromosom 18 (*NFATC*) und 20q13 (*NFATP*) lokalisiert [Li et al. 1995].

Diagnose und Therapie

Den 1. Hinweis auf einen Immundefekt ergab bei den wenigen Patienten die Anfälligkeit für chronische Infektionen. Untersuchungen der Anzahl der

Lymphozyten und deren Subpopulationen liefern bei IL-2-Defizienzen normale Werte. Der niedrige Immunglobulinspiegel sowie die fehlende Proliferationsfähigkeit der T-Zellen nach Stimulation mit PHA sind die entscheidenden diagnostischen Merkmale. Auf molekularer Ebene kann der Immundefekt durch das Fehlen von *IL-2*-mRNA-Transkripten in stimulierten T-Zellen mittels Northern-Blot nachgewiesen werden.

Als einzige kurative Therapie bietet sich z. Z. die Knochenmarktransplantation an. Zur kurzzeitigen Unterstützung der Immunantworten kann rekombinantes IL-2 gegeben werden [Pahwa et al. 1989].

1.2.3.5.4 X-chromosomaler schwerer kombinierter Immundefekt (γ C-Defekt)

Die größte Untergruppe der SCID-Erkrankungen bildet die X-chromosomal vererbte Form XSCID, die durch einen B⁺-T⁻-Phänotyp gekennzeichnet ist und etwa 30–40% aller SCID-Fälle ausmacht. Durch Kopplungsanalyse wurde der Gendefekt auf dem SCIDX1-Bereich Xq13.1 lokalisiert [De Saint Basile et al. 1987, Puck et al. 1993]. Nahezu gleichzeitig identifizierten Noguchi et al. [1993] und Puck et al. [1993] Mutationen im γ C-Gen (damals IL-2R γ) als genetische Ursache der Erkrankung. Inzwischen sind Mutationen in 135 betroffenen Familien analysiert worden, die phänotypischen und genetischen Charakteristika jedes Patienten werden weltweit in einer Datenbank erfaßt [Puck et al. 1996].

Krankheitsbild

Die XSCID-Patienten sind, wie bei allen klassischen SCID-Erkrankungen, durch einen Defekt der zellularen und humoralen Immunität gekennzeichnet. Die betroffenen Jungen erscheinen initial gesund aufgrund des Schutzes durch materne Antikörper. Sie erkranken jedoch innerhalb der ersten 6 Monate schwer mit den Symptomen, die in Kapitel 1.2.3.1.1 „Klinik“ für alle (S)CID Erkrankungen dargestellt sind. Im peripheren Blut fehlen reife T-Zellen aufgrund einer Blockierung der T-Zell-Entwicklung fast vollständig. Die Thymy der Betroffenen sind hypoplastisch und enthalten kaum Lymphozyten. Die Funktion des Epithelialgewebes des Thymus ist intakt, denn dieser wird nach einer erfolgreichen Knochenmarktransplantation wiederbesiedelt. Die Anzahl der B-Zellen im peripheren Blut ist normal oder relativ sogar leicht erhöht, der Immunglobulinspiegel aufgrund fehlender T-Helferzell-Funktion niedrig. Die B-Zellen sind

ebenfalls primär in den Krankheitsprozeß involviert. Dies zeigt sich in einem nicht zufälligen Inaktivierungsmuster der X-Chromosomen in reifen B-Zellen von Überträgerinnen sowie der fehlenden Aktivierbarkeit der kindlichen B-Zellen durch die T-Zellen des Spenders nach erfolgreicher Knochenmarktransplantation [Leonard et al. 1994]. NK-Zellen sind bei der klassischen Form des XSCID nicht nachweisbar. Mitigierte Verläufe des XSCID wurden beschrieben.

Molekularbiologie

Der XSCID-Phänotyp wird durch die Abwesenheit reifer T-Zellen und den Ausfall der von ihnen ausgeübten Funktionen verursacht. In der Lymphopoese spielen Zytokine als Botenstoffe, die den lymphoiden Vorläuferzellen Differenzierungs- und Proliferationssignale vermitteln, eine entscheidende Rolle. Die Proteinkomplexe, die den Kontakt zwischen den Zytokinen und den Vorgängen im Zellinnern vermitteln, sind die Zytokinrezeptorkomplexe. Diese sind meist aus mehreren Untereinheiten zusammengesetzt. Ihre extrazelluläre Domäne ist für die Bindung der Zytokine, ihre intrazelluläre Domäne für die Weiterleitung der Signale verantwortlich. Die genetische Ursache des XSCID sind Mutationen im γ_c -Gen. Das von diesem kodierte γ_c -Molekül ist ein membranständiges Glykoprotein, das als Untereinheit an den Rezeptoren für IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-15 beteiligt ist (Übersicht in: Sugamura et al. [1996]) (Abb. 1.2.8). Diese Zytokine wirken in der Hämatopoese und dort speziell auf Lymphozyten und deren Vorläuferzellen als Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, insbesondere IL-7 und der IL-7-Rezeptor scheinen in der T-Zell-Entwicklung eine zentrale Rolle zu spielen. Die Mutationen im γ_c -Gen bei XSCID-Patienten können bewirken, daß entweder die Bindungsfähigkeit der Zytokine an die Rezeptoren gestört oder die intrazelluläre Domäne nicht mehr in der Lage ist, Signale weiterzuvermitteln. Beides führt dazu, daß die normalerweise von den Zytokinen ausgelösten Reaktionen der Zelle nicht mehr stattfinden können. Auf die über die JAK3-Kinase vermittelte intrazelluläre Signalweiterleitung wird im Kapitel 1.2.3.5.5 „Janus-Kinase-3-Defizienz (JAK3-Defizienz)“ näher eingegangen.

Die Vererbung erfolgt X-chromosomal-rezessiv. Das γ_c -Gen wurde von Takeshita et al. [1992] kloniert, seine genomische Organisation umfaßt 8 Exons auf 4,2 kb [Noguchi et al. 1993]. Der Genlocus befindet sich im Bereich Xq13.1 [Noguchi et al. 1993]. Im Northern-Blot werden 2 Transkripte von 1,8 und 3,6 kb sichtbar, das Protein ist 64.000

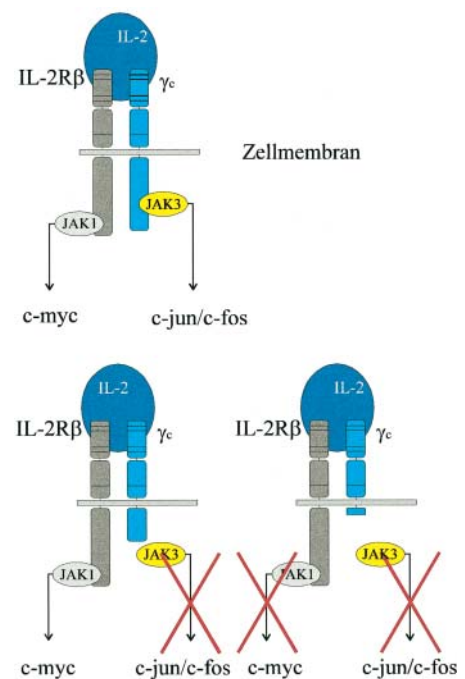


Abb. 1.2.8. Modell der Signaltransduktion über den Interleukin-2-Rezeptor-Komplex (IL-2R). Die γ_c -Kette ist an den IL-2-, IL-4-, IL-7-, IL-9- und IL-15-Rezeptoren beteiligt. Beispielfhaft sind der IL-2R-Komplex und die ihm nachgeschaltete Signaltransduktionskaskade gezeigt (auf die Darstellung der IL-2R- α -Kette wurde bewusst verzichtet; diese trägt zur IL-2-Bindung, nicht jedoch zur Signalweiterleitung bei). Die Janus-assoziierten Proteinkinasen, JAK1 und JAK3, sind mit der IL-2R- β -Kette bzw. γ_c -Kette assoziiert. Nach der Bindung von IL-2 kommt es zur Phosphorylierung und Aktivierung der JAK-Proteine, die Signale werden dann in den Kern weitergeleitet. Bei XSCID tritt je nach Mutation in der γ_c -Kette entweder ein Ausfall der kompletten Signaltransduktion oder ein partieller Ausfall der JAK3-vermittelten Funktion auf. Bei der JAK3-Defizienz entsteht wie bei einem Teil der XSCID-Fälle ein Signaltransduktionsdefekt. Ob der Ausfall der kompletten JAK3-Funktion auch die JAK1-Kaskade betrifft, ist noch nicht endgültig abgeklärt

groß. Die bisher identifizierten Mutationen umfassen Punktmutationen, Deletionen und Insertionen und treten über das ganze Gen verteilt auf; es wurden aber 5 sog. Hot spots im Mutationsmuster identifiziert, die folgende Aminosäurenveränderungen bedingen: Arg224Trp, Arg226Cys oder Arg226His, Glu235Stop, Arg285Glu und Arg289Stop [Puck et al. 1996].

Diagnostik und Therapie

Die initialen diagnostischen Merkmale sind die hohe Anfälligkeit gegenüber Infektionen und Ge-
deihstörungen. Die Analyse der Lymphozyten des peripheren Bluts zeigt die Abwesenheit kindlicher T-Zellen, eine normale B-Zell-Zahl und ein Fehlen

der NK-Zellen. Bei dieser Analyse muß jedoch darauf geachtet werden, daß evtl. vorhandene T-Zellen auch noch von der Mutter stammen können bzw. daß variante Formen der XSCID mit T-Zellen auftreten. Lymphozyten der Mütter betroffener Jungen weisen ein nicht zufälliges Muster der X-Inaktivierung auf. Da die genetische Grundlage der Erkrankung bekannt ist, können inzwischen durch Sequenzieren des γ c-Gens auf molekularer Ebene die XSCID-Erkrankung sowie der Überträgerstatus eindeutig nachgewiesen werden, ebenso ist eine molekulare Pränataldiagnose möglich.

Die derzeit einzige zur Verfügung stehende Therapie ist die Knochenmarktransplantation. Erste Experimente zur gentherapeutischen Behandlung der Erkrankung wurden bereits durchgeführt [Candotti u. Blaese 1996, Candotti et al. 1996a, Hacia-Bey et al. 1996, Taylor et al. 1996b]. Dabei gelang es, mittels eines retroviralen Vektors ein Wildtyp- γ c-Gen in B-Zell-Linien der Patienten einzubringen und deren Funktionsdefekt zu korrigieren.

1.2.3.5.5 Janus-Kinase-3-Defizienz (JAK3-Defizienz)

Neben den X-chromosomal vererbten XSCID-Erkrankungen, die von Mutationen im γ c-Gen verursacht werden, wurden auch SCID-Fälle mit autosomal-rezessivem Vererbungsmuster beschrieben, deren Phänotyp nicht vom B⁺-T⁻-XSCID-Phänotyp unterscheidbar ist. Inzwischen wurde von 2 unabhängigen Gruppen nahezu gleichzeitig gefunden, daß Mutationen im JAK3-Gen eine autosomal-rezessiv vererbte SCID-Entität charakterisieren [Macchi et al. 1995b, Russell et al. 1995].

Krankheitsbild

Das Krankheitsbild der betroffenen Patienten entspricht dem an XSCID erkrankter Jungen. Aufgrund der autosomalen Lokalisation des JAK3-Gens kann die Erkrankung jedoch auch bei Mädchen auftreten.

Molekularbiologie

Äquivalent zur XSCID ist auch bei den JAK3-Defizienzen die Entwicklung der T-Zellen in einem frühen Stadium blockiert. Die molekulare Ursache für diese Störung der Lymphopoese sind Mutationen im JAK3-Gen. Bisher wurden Defekte dieses Gens erst in 2 Familien charakterisiert [Macchi et al. 1995b, Russell et al. 1995]. Die beschriebenen Mutationen führen zu einer Instabilität der mRNA-Moleküle, d.h. das Protein wird nicht synthetisiert. Das JAK3-Gen kodiert eine cytoplasmatische Tyro-

sinkinase, die gemeinsam mit JAK1, JAK2 und TYK2 die Familie der Janus-Tyrosinkinasen bildet. Sie besitzen als charakteristisches strukturelles Merkmal sowohl eine katalytische Kinasedomäne als auch eine Kinase-ähnliche Domäne. Alle 4 Proteine sind an der durch Zytokine, Interferone und Wachstumsfaktoren initiierten intrazellulären Signaltransduktion beteiligt (Übersicht in: Ihle [1995], Taniguchi [1995]).

Das JAK3-Gen wird im Gegensatz zu den anderen Janus-Tyrosinkinasen nicht ubiquitär, sondern ausschließlich in lymphoiden und myeloiden Geweben und Zellen exprimiert [Kawamura et al. 1994, Rane u. Reddy 1994]. Seine besondere Bedeutung in der Lymphopoese ergibt sich aus der spezifischen Interaktion mit der intrazellulären Domäne der γ c-Rezeptor-Untereinheit, die an den Rezeptoren für IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-15 beteiligt ist (Abb. 1.2.8) (Übersicht in: Sugamura et al. [1996]). Nach der Bindung des Liganden an γ c-enthaltende Rezeptoren wird die JAK3-Kinase über die Bindung an die γ c-Kette aktiviert und phosphoryliert [Johnston et al. 1994, Witthuhn et al. 1994]. Paralell dazu werden über die intrazellulären Domänen der anderen Rezeptorbestandteile diverse weitere Proteine, u.a. JAK1 und STAT (signal transducers and activators of transcription), aktiviert und phosphoryliert. Am Ende der so gestarteten Signalkaskade wird die Transkription von Genen angeschaltet, deren Produkte für die Differenzierung und Proliferation der Zelle nötig sind. Der durch die Interaktion von γ c und JAK3 angeschaltete Signalweg scheint ein generelles Signal für die Aktivierung der Transkription zu sein, während die durch die anderen Rezeptoruntereinheiten mediierten Signale die Spezifität der Gentranskription bewirken [Lai et al. 1996]. Der Defekt des JAK3-Gens in den lymphoiden Progenitorzellen führt zu einer Unterbrechung der durch die Zytokine IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-15 normalerweise aktivierten Signalwege und somit zu einer fehlerhaften und reduzierten Reaktion der Zelle auf die Bindung dieser Zytokine. Die direkte Interaktion von JAK3 mit der intrazellulären Domäne der γ c-Untereinheit erklärt die Einheitlichkeit der Krankheitsbilder, die durch die Fehlfunktion jeweils eines der beiden Gene verursacht wird.

Die Vererbung der JAK3-Defizienz erfolgt autosomal-rezessiv. Das Gen wurde von Kawamura et al. [1994] kloniert, es ist auf Chromosom 19p13.1-2 lokalisiert und besteht aus 19 Exons [Riedy et al. 1996]. Die 4,3-kb-mRNA wird in ein Protein mit einem MG von 125.000 übersetzt.

Diagnose und Therapie

Die klinischen und immunologischen Charakteristika bei JAK3-SCID entsprechen aufgrund der korrespondierenden molekularen Ursachen denen bei XSCID. Für die molekulare Diagnostik bietet sich an, zunächst mit Antikörpern die Produktion des JAK3-Proteins zu überprüfen. Weiter erlaubt die Kenntnis der genomischen Organisation des Gens, die Nukleotidsequenz zu überprüfen. Dies ermöglicht auch eine Pränataldiagnostik und eine Bestimmung des Überträgerstatus.

Als kurative Behandlungsmaßnahme existiert derzeit nur die Knochenmarktransplantation. Es gibt jedoch analog zu XSCID erste Ansätze zu einer gentherapeutischen Behandlung der Erkrankung (s. auch Kapitel 1.2.3.5.4.3 „Diagnostik und Therapie“). So wurde von Candotti et al. [1996b] mittels eines retroviralen Vektors ein intaktes JAK3-Gen in B-Zell-Linien eines Patienten transferriert. Die B-Zellen zeigten danach eine normale JAK3-Expression sowie normale Reaktionen der Zellen auf Stimulation mit IL-2 und IL-4.

1.2.3.5.6 Autoimmun-lymphoproliferatives Syndrom (ALPS, FAS-Defekt)

Eine Erkrankung, die durch Lymphproliferation, variable Autoimmunphänomene, B-Lymphozytose, Hypergammaglobulinämie und die Expansion einer ungewöhnlichen Population von CD4⁺-CD8⁻-T-Zellen charakterisiert ist, wurde 1992 von Sneller et al. beschrieben. Den meisten dieser Fälle konnte inzwischen eine FAS/APO-1(CD95)-Mutation zugeordnet werden [Bettinardi et al. 1997, Drappa et al. 1966, Fisher et al. 1995, Rieux-Laucat et al. 1995, Sneller et al. 1997]. Einige Fälle zeigen jedoch keine Auffälligkeiten im FAS-FAS-Ligandensystem, so daß wohl weitere, bisher nicht identifizierte Gene ein ALPS auslösen können.

Krankheitsbild

Das ALPS ist die erste Erkrankung, bei der die Ursache für lymphoproliferative Autoimmunphänomene geklärt ist. Die Inzidenz der Erkrankung läßt sich aus den wenigen publizierten Fällen bisher nicht berechnen. Die Erkrankung kann bei homozygotem Gendefekt von Geburt an auftreten, je nach Mutation kann sie sich im heterozygoten Erkrankungsfall auch erst im 2. Lebensjahrzehnt manifestieren. Im Gegensatz zu allen anderen ID kann es beim FAS-Defekt zu einer klinischen Manifestation des Krankheitsbilds bei nur einem defekten Allel kommen (Molekularbiologie). Die Lymphoproliferation steht deutlich im Mittelpunkt

des initialen Geschehens; sie kann jegliche Lymphknotenstation betreffen und führt auch zu einer massiven Splenomegalie. Die Erkrankung wird oft als Malignom mißdeutet, insbesondere wenn es zu Raumforderungen kommt. Der Defekt führt zu einer B-Lymphozytose mit massiver Hyperimmunglobulinämie und Autoantikörperproduktion, vornehmlich gegen hämatopoetische Zellen, aber auch gegen andere Gewebe. In der Folge kommt es v.a. zu hämolytischen Anämien, Thrombopenien und Neutropenien. Vereinzelt wurden eine Glomerulonephritis, ein Guillain-Barré-Syndrom und antinukleäre Antikörper beschrieben, ohne daß ein Lupus erythematodes in den Patienten diagnostizierbar war. Der Beitrag der einzelnen Immunglobulinklassen zu der Hyperimmunglobulinämie ist variabel. In der Peripherie sind CD4⁺-CD8⁻-T-Zellen relativ und absolut deutlich erhöht. Sie zeigen ein abnormes Aktivierungsmuster mit HLA-DR-Expression bei fehlendem CD25 und sind nach mitogener Stimulation CD69-positiv, ohne CD40L zu induzieren. In keinem Patienten läßt sich ein aktivierungsinduzierter, programmierter Zelltod mit Antikörpern oder löslichem FAS-Ligand auslösen. Der Nachweis der FAS-Expression auf der Zelloberfläche ist abhängig von der spezifischen Mutation und variiert zwischen geringer Reduktion bis zu vollständigem Fehlen. Heterozygote Anlageträger sind klinisch gesund, zeigen in einigen Funktionstests oftmals aber Werte, die zwischen dem Normalbefund und den Werten von Patienten liegen.

Molekularbiologie

Der programmierte Zelltod spielt eine Schlüsselrolle in der zellularen Homöostase des Immunsystems. Über diesen Mechanismus werden nicht nur während der T-Zell-Ontogenese im Thymus autoreaktive Thymozyten entfernt, sondern auch in der Peripherie autoreaktive T- und B-Zell-Klone eliminiert. Eine beginnende T-Zell-Antwort gegen Antigene wird über einen Apoptosemechanismus gegenreguliert, so daß die Dauer und die Geschwindigkeit einer Immunantwort kontrolliert verlaufen [Mountz et al. 1995, Russel 1995, Straszer 1995]. FAS (CD95) und FAS-Ligand sind auf der Oberfläche aktivierter Lymphozyten exprimiert; ihre Interaktion löst physiologischerweise über FAS einen vorprogrammierten molekularen Mechanismus aus, der im Zelltod endet [Krammer et al. 1994, Nagata u. Golstein 1995]. Das FAS-induzierte apoptotische Signal erfordert eine Trimerisierung von FAS. Die FAS-FAS-Ligand-Interaktion löst sodann eine proteolytische Kaskade aus, in

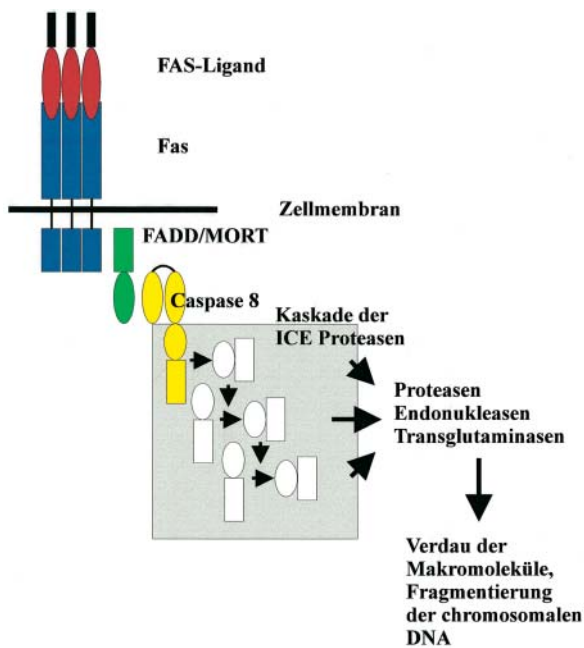


Abb. 1.2.9. Schema der Apoptoseinduktion über FAS (CD95), die Bindung von FAS-Ligand an FAS induziert die Trimerisierung des FAS-Rezeptors. In der Folge wird Caspase-8 (FLICE/MACH) über einen Adaptor (FADD/MORT1) an FAS rekrutiert. Caspase-8 wird durch Oligomerisierung autoaktiviert und kann dann die ICE-Protease-Kaskade auslösen. Die aktivierten ICE-Proteasen attackieren mehrere Substrate, u. a. Poly-(ADP)-Ribose-Polymerase (PARP), Lamin und Aktin. Dies führt in die terminale, irreversible Phase der Apoptose, die durch einen Verdau der Makromoleküle und zelluläre Fragmentation charakterisiert ist

deren Folge Enzyme aktiviert werden, was zur Proteolyse weiterer Proteine führt, die an der DNA-Reparatur beteiligt sind oder zur Zellintegrität beitragen. Außerdem werden Endonukleasen aktiviert, die die DNA fragmentieren (Abb. 1.2.9).

FAS, ein Typ-1-Transmembranprotein, ist ein Mitglied der Tumornekrosefaktor-Rezeptor-Superfamilie mit 3 extrazellulären Cystein-reichen Domänen und einer konservierten zytoplasmatischen „death domain“, die die Signale für den Zelltod überträgt.

Inazawa et al. lokalisierten 1992 das humane FAS-Gen auf den Chromosomenabschnitt 10q24.1. Das Gen umfaßt 25 kb, besteht aus 9 Exons und wird in eine 2,7- bzw. 1,9-kb-mRNA transkribiert, die ein Protein mit einem MG von 48.000 mit 319 Aminosäuren kodiert [Behrmann et al. 1994, Itoh et al. 1991]. Veränderungen des FAS-Gens umfassen homozygote Deletionen [Rieux-Laucat et al. 1995], heteroallelische Missense-Mutationen [Bettinardi et al. 1997] sowie heterozygote Deletionen, Missense- und Spleißsequenzmutanten [Drappa et

al. 1996, Fisher et al. 1995, Sneller et al. 1997]. In In-vitro-Rekonstitutionsexperimenten zeigten einige dieser mutierten FAS-Proteine einen dominant-negativen Effekt. In krassem Gegensatz zu diesem Befund zeigten interessanterweise Eltern oder Geschwister von einigen Patienten, die ebenfalls das in vitro dominant-negativ wirkende Allel geerbt haben, keinen klinischen Phänotyp. Auch wurden bei ihnen keine auffälligen Lymphozytenpopulationen gefunden. Dies führte zur bisher nicht bewiesenen Hypothese, daß in den kranken Kindern ein 2. defektes Gen zusammen mit dem auf einem Allel mutierten FAS die Krankheit auslöst (digenische Krankheitsursache). Es wird spekuliert, daß Defekte von rezeptornahen Signalmolekülen diesen Phänotyp sowie, in Kombination mit defektem FAS, die Entstehung eines ALPS bedingen.

Diagnose und Therapie

Die Lymphoproliferation in Milz und Lymphknoten, zusammen mit Autoimmunzeichen wie Hämolyse, Thrombopenie und Neutropenie, ist ein erster Hinweis auf ein ALPS. Der Nachweis einer stark erhöhten $CD3^+$ - $CD4^-$ - $CD8^-$ -T-Zell-Population im peripheren Blut mit ungewöhnlichem Aktivierungsmuster unterstützt, insbesondere bei bestehender Hyperimmunglobulinämie und B-Zell-Lymphozytose, die Diagnose. Diese kann in manchen Fällen dadurch gesichert werden, daß FAS weder mit Antikörpern noch mit löslichem FAS-Ligand auf der Zelloberfläche von stimulierten T-Zellen nachweisbar ist. Weiterhin läßt sich bei aktivierten T-Zellen der Patienten kein FAS-induzierter programmierter Zelltod auslösen. Die genetische Analyse des FAS-Defekts ist möglich. Schwierigkeiten sind jedoch in der heterozygoten Situation zu erwarten. Die dominant-negative Wirkung einer heterozygoten Mutation sollte in Transfektionsexperimenten nachgewiesen werden. Beim Verdacht auf eine digenische Ursache des Apoptosedefekts ist eine Familienanalyse hilfreich. In dem Elternteil, der die heterozygote FAS-Mutation nicht vererbt, kann aufgrund eines unabhängig betroffenen Gens oft eine eingeschränkte Apoptosefähigkeit nachgewiesen werden.

Eine standardisierte Therapie des ALPS existiert derzeit nicht. Kortikosteroide haben vorübergehend einen Effekt auf die Lymphozytenmasse. Nach Absetzen der Medikation kommt es jedoch zu einer erneuten Lymphoproliferation. IFN α und Cyclosporin A zeigen keinen antilymphoproliferativen Effekt. Eine i.v. Immunglobulingabe kann ebenso wie die Splenektomie bei ITP indiziert sein. Letztere ist insbesondere bei Hypersplenis-

mus in Betracht zu ziehen. In einem Fall wurde bisher eine allogene KMT mit Erfolg durchgeführt.

1.2.3.5.7 Interferon γ Rezeptor-Defekt (IFNGR1-Defekt)

Eine Infektionserkrankung, bei der diverse Mykobakterienspezies trotz spezifischer antibiotischer Therapie und IFN γ -Substitution nicht eliminiert werden konnten, wurde 1995 in 4 erkrankten Kindern beschrieben [Levin et al. 1995]. Der Defekt wurde dem *IFNG1R*-Gen zugeordnet. Eine Mutation dieses Gens wurde in der Folge auch mit einer fatal verlaufenden, disseminierten BCGitis assoziiert [Jouanguy et al. 1996].

Krankheitsbild

Die idiopathische disseminierte BCGitis lässt sich in zwei Subtypen aufteilen: solche Erkrankungen, die tuberkuloid mit Granulombildung verlaufen und sehr wenig säurefeste Stäbchen zeigen, und solche, die schlecht differenzierte Granulome mit wenigen Riesenzellen und Lymphozyten, aber eine große Zahl Stäbchen-beladener Makrophagen aufweisen [Emile et al. 1997]. Ein Mädchen, das am letztgenannten Krankheitsbild verstarb, wurde nach unauffälligem intrauterinen und postnatalen Verlauf mit 1 Monat BCG-geimpft [Jouanguy et al. 1996]. 10 Wochen nach der Impfung entwickelte sich ein kontinuierliches Fieber mit regionaler Lymphadenitis. Schnell folgten eine Kachexie, granulomatöse Dermatitis, Hepatosplenomegalie, Lymphknotenvergrößerung, Pneumonitis und multiple Osteolysen. Die Akutphaseproteine waren erhöht. Eine Histologie zeigte schlecht charakterisierte Granulome mit massenhaft säurefesten Stäbchen des Impfstamms. Trotz massiver antimykobakterieller Behandlung und IFN γ -Substitution war der Verlauf fatal.

In einer anderen Familie wiesen alle betroffenen Mitglieder Zeichen einer Entzündung mit Fieber und hohen Akutphaseproteinen, Gewichtsverlust, Hepatosplenomegalie und Osteolysen auf. Die betroffenen Kinder verstarben trotz adäquater Antibiotikatherapie und IFN γ -Substitution an mykobakteriellen Infektionen. Die immunologische Labordiagnostik war in allen Fällen weitestgehend unauffällig mit normaler Lymphozytenpopulation. Die Immunglobulintiter waren im Normbereich. Die konstitutive Expression von HLA-Klasse-I- und -II-Antigen war unauffällig. Mitogen- und Tuberkulinstimulation sowie der verzögerte Hauttest mit PPD (purified protein derivative) waren positiv, ebenso wie die spezifische Antikörperbildung.

Der Nachweis der IFN γ -Bindung an die Zellen der Patienten gelang nicht, ebenso konnte mit Antikörpern gegen IFNGR1 auch nach Dexamethasonstimulation keine Oberflächenmarkierung der Zelle erzielt werden. Die Produktion von Tumornekrosefaktor α (TNF α) nach Lipopolysaccharid- bzw. IFN γ -Stimulation war drastisch reduziert.

Molekularbiologie

Nach Stimulation, z.B. durch Mykobakterien, sezernieren Makrophagen TNF α , IL-12 sowie weitere Faktoren. Dadurch werden die IFN γ -Produktion von NK-Zellen und die Antigen-abhängige Differenzierung von CD4⁺-T-Zellen in IFN γ -produzierende T-Helfer-1-Zellen induziert. IFN γ reguliert dann eine erhöhte TNF α -Ausschüttung der Makrophagen und eine Aktivierung von mykobakterioziden Mechanismen, wie z.B. die NO-Produktion (Übersicht in: Farrar u. Schreiber [1993]).

IFN γ induziert die Aktivierung durch Bindung an einen Rezeptorkomplex, der aus mindestens 2 Untereinheiten besteht: IFNGR1 und IFNGR2 (Abb. 1.2.10). Beide Komponenten werden für eine normale Signaltransduktion benötigt. Die IFN γ -Bindung induziert ihrerseits eine IFNGR1-Dimerisierung, in deren Folge IFNGR2 assoziiert wird, wobei IFN γ dann mit den beiden verschiedenen Rezeptorketten interagiert. Die JAK1- und JAK2-Ki-

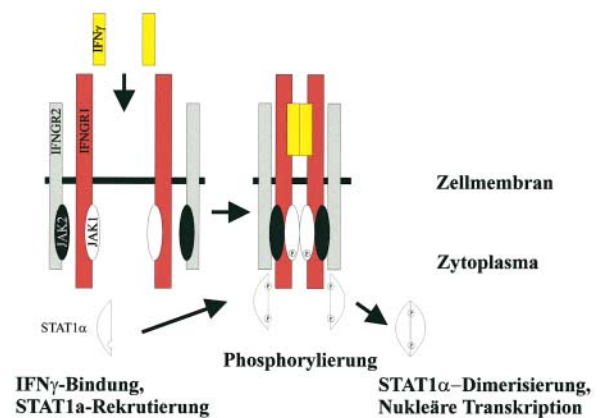


Abb. 1.2.10. Modell der Signaltransduktion über den Interferon- γ -Rezeptor-Komplex. Die beiden Ketten des Interferon- γ -Rezeptors (*IFNGR1* Interferon- γ -Rezeptor 1; *IFNGR2* Interferon- γ -Rezeptor 2) ragen durch die Membran. Die beiden Janus-assoziierten Proteinkinasen *JAK1* und *JAK2* sind mit den beiden IFNGR-Ketten eng vergesellschaftet. Nach der Bindung von Interferon γ (*IFN γ*) kommt es zur Heterodimerisierung der IFNGR-Ketten, anschließend zu einer Phosphorylierung der *JAK1*-Proteinkinasen, gefolgt von einer Phosphorylierung und Dimerisierung des STAT1 α -Proteins (signal transducer and activator of transcription 1 α protein). Daraus resultiert dann eine IFN γ -abhängige Genaktivierung.

nasen sind intrazellulär mit IFNGR1 bzw. IFNGR2 assoziiert und werden nach IFN γ -Bindung in räumliche Nähe zueinander gebracht und phosphoryliert. Anschließend erfolgt eine Autophosphorylierung des IFNGR1-Rezeptors, gefolgt von einer STAT1-Aktivierung, wobei es nach der Translokation von STAT1 in den Zellkern und Bindung an IFN γ -induzierbare Promotoren zur Transkription dieser mykobakteriellen Antwort kommt.

Das *IFNGR1*-Gen liegt auf Chromosom 6q23 [Le Coniat et al. 1989] und umfaßt auf 25 kb 7 Exons. Die extrazelluläre Domäne wird von Exon 1–5 und Teilen von Exon 6 gebildet. Der Rest von Exon 6 kodiert für die Transmembranregion, während Exon 7 den intrazellulären Anteil umfaßt [Merlin et al. 1997]. Vom Gen wird eine 2,3 kb lange mRNA transkribiert; ein Glykoprotein mit einem MG von 85.000–95.000 wird an der Zelloberfläche exprimiert [Aguet et al. 1988].

Durch Nonsense-Mutation bzw. Deletion eines Nukleotids wurde in jeweils einer Familie ein prämaures Stopkodon im extrazellulären Anteil von IFNGR1 eingeführt [Jouanguy et al. 1996, Newport et al. 1996]. Das translatierte IFNGR1-Produkt wird in keinem der Fälle stabil auf der Zelloberfläche exprimiert. Die Signaltransduktionskette ist somit unterbrochen, eine wirksame antimykobakterielle Makrophagenreaktion unterbleibt.

Diagnose und Therapie

Die Klinik einer mykobakteriellen Infektion, die trotz spezifischer Antibiotikatherapie und Interferonsubstitution keine Besserung bringt und nicht durch einen anderen primären oder sekundären Immundefekt erklärt werden kann, weist auf einen IFNGR1-Defekt hin. Histologisch zeigt sich bei den Patienten im befallenen Gewebe keine Granulombildung. Die Analyse der IFNGR1-Expression auf peripheren Blutzellen sowie auf EBV-transformierten B-Zell-Linien kann negativ ausfallen. Die IFN γ -Bindung an Blutzellen ist deutlich reduziert, die Produktion von TNF α im peripheren Blut nach Lipopolysaccharid- oder IFN γ -Stimulation reduziert, jedoch nicht aufgehoben. Heterozygote Anlageträger zeigen in den aufgeführten funktionellen Tests intermediäre Resultate. Auf RNA- und genomischer DNA-Ebene ist eine direkte Analyse des *IFNGR1*-Gens möglich, Anlageträger können molekularbiologisch diagnostiziert werden.

Erfolgreiche Therapieschemata stehen für diese Erkrankung noch nicht zur Verfügung. Spezifische antimykobakterielle Antibiotika sowie eine IFN γ -Gabe wurden erfolglos angewandt. Eine Knochenmarktransplantation ist bisher nicht beschrieben.

1.2.4 Immundefektsyndrome

1.2.4.1 DiGeorge-Syndrom (CATCH22)

Das DiGeorge-Syndrom (DGS, DiGeorge-Sequenz) ist eine wahrscheinlich heterogene Erkrankung, die durch eine Vielzahl von Defekten in unterschiedlichen Organen, u. a. der Parathyreoidea und im Ausflußtrakt des Herzens, charakterisiert ist. Ein Bestandteil der Erkrankung ist ein T-Zell-Defizit. Die Originalbeschreibung des Syndroms entstammt einer Diskussion auf einem Immunologiekongreß [Cooper et al. 1965]. DiGeorge [1968] publizierte 3 Jahre später einen formalen Bericht und wurde somit zum Namensgeber der Erkrankung. Aufgrund der Überlappung sowohl phänotypischer als auch genetischer Aspekte mit dem velokardiofazialen Syndrom (VCFS, auch Shprintzen-Syndrom) und weiteren Syndromen wurde von Wilson et al. [1993] das Akronym CATCH22 (cardiac abnormality, abnormal facies, T cell defect due to thymic hypoplasia, cleft palate, hypocalcemia due to hypoparathyroidism resulting from 22q11 deletion) als einheitliche Nomenklatur vorgeschlagen, die die Gemeinsamkeiten im Phänotyp fast aller betroffenen Patienten beschreibt.

1.2.4.1.1 Krankheitsbild

Der Phänotyp des DiGeorge-Syndroms ist durch Fehlentwicklungen in einer Vielzahl von Geweben, Organen und Körperteilen charakterisiert, die auf einer Hemmungsfehlbildung der 3. und 4. Schlundtasche im Embryo basieren. Die Ausprägung der einzelnen Defekte ist jedoch von Fall zu Fall sehr heterogen. Häufig besteht als erste Auffälligkeit eine neonatale Krampfanfälligkeit bei Hypokalzämie aufgrund des Hypoparathyreoidismus. Die Anzahl der C-Zellen (Calcitonin-produzierende Zellen) in der Nebenschilddrüse ist stark reduziert [Palacios et al. 1993]. Ferner zeigt sich eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen aufgrund einer T-Zell-Defizienz. Das klinische Spektrum reicht dabei von einer Thymusaplasie mit Fehlen jeglicher T-Zellen bis zu einer normalen Zahl von T-Zellen. Ein weiteres charakteristisches Merkmal des Syndroms sind angeborene Herzdefekte, die im wesentlichen den Ausflußtrakt des Herzens betreffen. Weiterhin sind auch Gesichtsdysmorphien ein wichtiger Bestandteil des DiGeorge-Syndroms. Die Ohren sind typischerweise klein und niedrig angesetzt. Das Philtrum ist kurz, der Mund klein, eine Retrogenie und Gaumen-

spalte können vorliegen; es bestehen ein Hypertelorismus, kurze und enge Lidspalten, eine prominente Nasenwurzel mit manchmal gekerbter Nasenspitze und hypoplastischen Nasenflügeln sowie antevertierten Nasenlöchern. Weitere Merkmale können Minderwuchs sowie leichte bis mittlere Lernschwierigkeiten sein.

1.2.4.1.2 Molekularbiologie

Der genetische Defekt, der dem DiGeorge- (DGS) und dem velokardiofazialen Syndrom (VCFS) zugrundeliegt, ist noch nicht identifiziert. Daher sind die molekularen Funktionsdefekte, die zu dieser Erkrankung führen noch nicht aufgeklärt.

Bereits konventionelle zytogenetische Studien ergaben, daß 20% aller Patienten einen Defekt in der Region 22q11 aufweisen, molekularzytogenetische Techniken zeigten dann Aberrationen dieses Bereichs sogar in mehr als 90% aller Patienten [De la Chapelle et al. 1981, Greenberg et al. 1988], ganz überwiegend in Form größerer Deletionen, seltener als submikroskopische Deletionen oder unbalancierte Translokationen. In wenigen Fällen wurden auch chromosomale Aberrationen anderer Loci (z.B. 10p13) beschrieben [Daw et al. 1996]. Die minimale DGS-VCFS-kritische Region konnte kürzlich auf einen Bereich von 250 kb auf Chromosom 22q11.2 eingegrenzt werden [Gong et al. 1997]. In diesem Bereich wurden mehrere Kandidatengene identifiziert, die jedoch jedes für sich nicht die alleinige Ursache der Erkrankung sein können [Dallapiccola et al. 1996]. Man diskutiert, daß entweder eine Haploinsuffizienz mehrerer Gene (im Sinn eines continuous gene syndrome) für die phänotypische Ausprägung des DGS bzw. VCFS verantwortlich ist oder aber Defekte eines Gens die unterschiedlichen Manifestationen bedingen. Die Inzidenz der Mikrodeletion 22q11 wird auf 1:5000 geschätzt und kommt bei etwa 5% aller kongenitalen Herzfehler vor. Das DiGeorge-Syndrom tritt ganz überwiegend sporadisch auf, aber auch familiäre Fälle wurden beschrieben.

1.2.4.1.3 Diagnose und Therapie

Den ersten Anhaltspunkt für das DiGeorge-Syndrom liefert eine Kombination von fazialen Dysmorphien und angeborenen Defekten des Ausflustrakts des Herzens. Unmittelbar nach der Geburt ist die Hypokalzämie ein wichtiges diagnostisches Kriterium. Weiterhin werden die Hypoplasie von Thymus und Nebenschilddrüse als Indizien verwendet. Seit Einführung molekularzytogenetischer

Techniken gehört eine Analyse der Chromosomenregion 22q11 zur Abklärung der Verdachtsdiagnose.

Aus den unterschiedlichen Anomalien ergibt sich eine Reihe von therapeutischen Überlegungen. Hierzu gehört die Transplantation von fetalem Thymus. Der Immundefekt kann erstaunlicherweise auch durch eine Knochenmarktransplantation therapiert werden. Adulte T-Zellen im Transplantat könnten dabei trotz Fehlens eines Thymus in der Peripherie (u.a. im lymphatischen Gewebe des Darms) expandiert werden. Die Hypokalzämie wird durch Gabe von Kalzium und 1,25-OH-Cholecalciferol behandelt. Beim Heranwachsen der Kinder muß auf eine Sprachtherapie und im Bedarfsfall auf zusätzliche Lernhilfen geachtet werden. Herzfehler und andere Fehlbildungen werden abhängig vom Schweregrad operativ behandelt.

1.2.4.2 Ataxia teleangiectatica (Louis-Bar-Syndrom, AT)

Die Ataxia teleangiectatica (AT) ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die mit einer Inzidenz von etwa 1:100 000 auftritt [Swift et al. 1986]. Das Syndrom ist charakterisiert durch eine progressive zerebelläre Ataxie, okulokutane Teleangiektasien, Prädisposition zur Malignität, erhöhte Sensibilität gegenüber ionisierender Strahlung und durch Defekte sowohl der humoralen als auch der zellularen Immunität. Zelluläre Defekte der AT umfassen eine Chromosomeninstabilität, Beschleunigung von Alterungsprozessen, eine Radiosensitivität und Defekte in der Aktivierung von intrazellulären Signalen und Zellzykluskontrollpunkten nach Einwirkung ionisierender Strahlung.

1.2.4.2.1 Krankheitsbild

Die AT bietet ein eindruckliches Beispiel dafür, wie ein einzelner Gendefekt verschiedene Organsysteme beeinflussen kann (Übersichten in Harnden [1994], Sedwick u. Boder [1991], Shiloh [1995]). Die progrediente zerebelläre Ataxie manifestiert sich meist im 2. Lebensjahr, beginnt am Stamm und weitet sich in eine generalisierte Motoneurondysfunktion aus, die die Extremitäten, Okulomotorik und die Sprache, die zunehmend dysarthrisch wird, erfaßt. Eine mentale Retardierung tritt nicht bei allen Patienten ein [Boder u. Sedwick 1962]. Die Symptome erklären sich neuropathologisch durch eine fortschreitende kortikale Degeneration des Kleinhirns, die hauptsächlich die Purkinje-Zel-

len betrifft. Weitere neuronale degenerative Veränderungen treten im Rückenmark, im Hirnstamm und an peripheren Nerven auf. Teleangiektasien helfen, die AT von anderen Ataxien zu unterscheiden. Zwischen dem 2. und 8. Lebensjahr erscheinen sie zunächst an den Konjunktiven, später im Ohr und im Gesicht. Dazu können die Depigmentierung der Haare, Vitiligo, Café-au-lait-Flecken und Sklerodermie-ähnliche Hautveränderungen auftreten. Variabel auftretende, endokrinologische Störungen umfassen eine Wachstumsretardierung, einen Hypogonadismus sowie in über 50% der Fälle einen Insulin-resistenten Diabetes mellitus. Erhöhte Serumspiegel von α -Fetoprotein und karnoembryonalem Antigen weisen auf eine gestörte Leberfunktion hin.

Bei AT-Patienten besteht ein 100fach erhöhtes Malignitätsrisiko gegenüber der übrigen Bevölkerung. 10% der Patienten erkranken in der Kindheit an einem Malignom, wobei Lymphome und akute lymphatische Leukämien mit 85% den Hauptteil der Erkrankungen bedingen. Epitheliale maligne Erkrankungen akkumulieren mit dem Lebensalter (Übersicht in: Linet [1985], Swift et al. [1991]).

Rekurrierende sinobronchopulmonale Erkrankungen durch Bakterien und Viren bis hin zur Entwicklung von bronchiektatischen Lungenveränderungen sind Ausdruck des humoralen und zellularen Immundefekts bei AT (Übersicht in: Lavin u. Shiloh [1997]). Der Serum-IgM-Spiegel ist meist erhöht, während eine Reduktion verschiedener Kombinationen von IgA-, IgE- und IgG-Subklassen die Hypogammaglobulinämie erklären. Sehr häufig werden atypisch monomere IgM-Fragmente gefunden. Autoantikörper gegen Thymus- und Hirngewebe sowie antierythrozytäre Antikörper sind oft erhöht. Die absolute B-Zell-Zahl im Blut ist normal, die Zahl der $CD4^+$ - und $CD8^+$ -T-Zellen ist reduziert, wobei die $CD4^+$ -Zellen am stärksten betroffen sind, so daß das $CD4^+$ - $CD8^+$ -Verhältnis invertiert ist. Der relative Anteil an γ - bzw. δ -Rezeptor tragenden T-Zellen ist erhöht. Der Thymus läßt sich entweder nicht oder nur rudimentär nachweisen. Als Folge einer Entwicklungsstörung ergibt eine Thymusbiopsie fast immer ein aplastisches Thymusgewebe mit embryonalen Strukturelementen. Variable oder erniedrigte T-Zell-Antworten werden bei verschiedenen In-vivo- und In-vitro-Tests erhalten: so eine fehlende Hautreaktion vom verzögerten Typ, eine verminderte Lymphozytenproliferation nach Mitogen- oder Antigenstimulation und eine verminderte zytotoxische Aktivität. Die NK-Zell-Funktion ist in der Regel normal.

Heterozygote Anlageträger weisen nach epidemiologischen Untersuchungen eine erhöhte Malignomprädisposition auf; insbesondere wird eine 5- bis 8fach erhöhte Mammakarzinomrate bei Frauen diskutiert [Fitzgerald et al. 1997, Swift et al. 1991].

Die klinische Variabilität der AT läßt keine gesicherte Prognose zu. Frühen Todesfällen durch Infektion und Malignom stehen Verläufe bis in die 4. Dekade gegenüber. Diese Patienten sind oft physisch und mental stark behindert.

1.2.4.2.2 Zytogenetik

Bei der Chromosomenuntersuchung findet man eine erhöhte Chromosomenbruchrate infolge verminderter Reparatur spontan oder induziert (Bestrahlung, Radiomimetika) auftretender Chromosomenbrüche und Translokationen. Diese Zellklone können in peripheren Lymphozyten auftreten und weisen bevorzugt Bruchpunkte in den Genen für T-Zell-Rezeptoren und Immunglobuline auf. Sie sind oftmals die Vorboten einer lymphozytären Neoplasie [Kojir et al. 1991].

1.2.4.2.3 Zellbiologie

Zelllinien von AT-Patienten zeigen eine erhöhte Radiosensitivität [Taylor et al. 1975], deren Ursache auf ein Versagen der Zellen zurückgeht, nach Bestrahlung die Inkorporation von Nukleotiden zu stoppen (radioresistente DNA-Synthese) [Houlsworth u. Lavin 1980]. Weitere zellbiologische Auffälligkeiten sind die Sensitivität gegenüber Radiomimetika, vorzeitige Zellalterung, abnormale Aktinbestandteile des Zytoskeletts und Defekte in den Zellzykluskontrollpunkten nach Bestrahlung [Jorgensen u. Shiloh 1996, Rotman u. Shiloh 1996, Taylor et al. 1994].

1.2.4.2.4 Molekularbiologie

Zelluläre Studien erbrachten mehrere Komplementationgruppen für AT, so daß Phänokopien mehrerer verschiedener defekter Gene erwartet wurden [Jaspers et al. 1988]. Das AT-Gen wurde auf Chromosom 11q22-33 [Gatti et al. 1988] lokalisiert, durch Savitsky et al. [1995a,b] kloniert und ATM benannt. Das ATM-Gen erstreckt sich mit 66 Exons über eine Länge von 150 kb genomischer DNA und wird in eine etwa 13 kb lange mRNA transkribiert [Savitsky et al. 1995b, Uziel et al. 1996]. Die meisten der bisher in AT-Patienten charakterisierten Mutationen, wie größere Deletionen oder prämatüre Stoppsignale, führen zu einem in-

aktiven ATM-Protein [Byrd et al. 1996, Gilad et al. 1996, Savitsky et al. 1995 a]. Mutationen im ATM-Gen wurden überraschenderweise für alle Zellkomplementationsgruppen beschrieben; dies könnte durch eine intragenische Komplementation erklärt werden. Der offene Leseraster des ATM-Transkripts kodiert für ein konstitutiv exprimiertes Protein mit einem MG von 350.000. Das Protein läßt sich in Fibroblasten und Lymphozyten im Kern sowie in Lymphozyten in der mikrosomalen Fraktion nachweisen. Die Expression eines C-terminalen Anteils, welche die PI-3-Kinase-Domäne umfaßt, komplementiert den Phänotyp der Radiosensitivität und der bestrahlungsresistenten DNA-Synthese in AT-Zellen [Morgan et al. 1997].

Das ATM-Protein gehört zu einer Familie großer Proteine, die an der Zellzyklusprogression und an der Kontrolle der zellulären Antwort auf DNA-Schäden beteiligt sind. Alle Mitglieder dieser Familie sind im C-Terminus hochkonserviert und zeigen Ähnlichkeit mit der katalytischen Domäne der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI-3-Kinase) (Übersicht in: Zakian [1995]). Das ATM-Protein besitzt keine PI-3-phosphorylierenden Eigenschaften. Wie andere Mitglieder der PI-3-Kinase-Familie auch kann es *in vitro* Proteine phosphorylieren, u. a. I κ B α , den Inhibitor des NF κ B und p53, den „Wächter des Genoms“ [Jung et al. 1997]. Es konnte gezeigt werden, daß die Kinasedomäne von ATM mit der Tyrosinkinasedomäne von c-ABL interagiert, und zwar als spezifische Reaktion auf einen strahleninduzierten DNA-Schaden [Baskara et al. 1997, Shafman et al. 1997]. Ein Ausfall dieser Regulationsebene in AT-Zellen könnte einen Defekt im Zellzyklus-G₁/S- und S-Kontrollpunkt, evtl. auch über einen Verlust der Akkumulation von p53, erklären [Kastan et al. 1992]. Dieser Ausfall könnte aber auch mit einer defekten Signaltransduktion sowie einer Erniedrigung des Schwellenwerts für apoptotische Prozesse bzw. einer gestörten Antwort auf reaktive Sauerstoffintermediärprodukte in Verbindung gebracht werden (Übersicht in: Jorgensen u. Shiloh [1996], Rotman u. Shiloh [1996]). Eine genauere Analyse der pleiotropen Funktion des ATM-Proteins steht aber noch aus.

1.2.4.2.5 Diagnose und Therapie

Beim Auftreten einer Ataxie und/oder weiteren klinischen Symptomen sind erhöhte α -Fetoprotein- und karzinoembryonale Antigenspiegel für AT relativ typisch. Die immunologischen Veränderungen bei AT wurden in Kapitel 1.2.4.2.1 „Krankheitsbild“ beschrieben. Zytogenetische Analysen

ergaben eine erhöhte Chromosomenbrüchigkeit, insbesondere nach Belastung durch Radiomimetika (Bleomycin), sowie klonale T-Zell-Aberrationen in Form von Translokationen oder Inversionen der Chromosomen 7 und 14. Auf Proteinebene ist in über 90% der Fälle das ATM-Protein im Immunoblot oder in der Immunfluoreszenz nicht nachweisbar. Mutationen können durch genetische Untersuchungen auf RNA- und genomischer Ebene identifiziert werden. Eine pränatale Diagnostik ist möglich, aber ohne vorausgegangene Charakterisierung eines Indexpatienten aufgrund der Länge des ATM-Gens erschwert.

Bisher steht keine kurative Therapie zur Verfügung. Eine Knochenmarktransplantation wurde nicht durchgeführt und erscheint auch angesichts des Fortschreitens der neurologischen Symptomatik, die hierdurch nicht verhindert werden kann, im Regelfall nicht indiziert. Bakterielle Infektionen können durch intensive antibiotische Therapie kontrolliert werden. Eine prophylaktische antiinfektiöse Therapie vermindert die Infektionsfrequenz. Bei Hypogammaglobulinämie ist eine Substitutionstherapie angezeigt. Lebendimpfungen sind kontraindiziert, Blutprodukte sollten bestrahlt und CMV-frei sein. Bei AT-Patienten mit Malignomen ist eine Reduktion der Bestrahlungsdosis sowie der Radiomimetika aufgrund der gesteigerten Strahlenempfindlichkeit erforderlich [Harris u. Seeler 1973].

1.2.4.3 Bloom-Syndrom (BS)

1.2.4.3.1 Krankheitsbild

Das Bloom-Syndrom, BS (Übersicht in: German [1995]), ist eine seltene autosomal-rezessive Erkrankung. Die hauptsächliche und konstanteste klinische Erscheinung ist ein schwerer proportionierter prä- und postnataler Minderwuchs. Die Patienten haben ein schmales Gesicht und eine Mikrozephalie. Die Stimmlage ist relativ hoch. Meistens entwickelt sich ein Sonnenlicht-induziertes Erythem im Bereich von Wangen, Augenlider, Mund und Ohren. Männliche Patienten bilden keine Spermatozoen, so daß die Hoden disproportional klein sind. Weibliche Patienten können fruchtbar sein, jedoch tritt die Menopause ungewöhnlich früh auf.

Der wesentliche Grund für eine verkürzte Lebenserwartung von BS-Patienten ist die hohe Krebsrate. Von 168 im BS-Register aufgeführten Patienten haben innerhalb von 17 Jahren 71 Pa-

tienten 100 Malignome entwickelt [German 1997]. Beim BS treten maligne Tumoren in ähnlicher Verteilung, aber in wesentlich jüngerem Alter im Vergleich zur übrigen Bevölkerung auf. Besonders hoch ist der Anteil an Lymphomen, Leukämien und Adenokarzinomen.

Die Immundefizienz der BS-Patienten ist äußerst variabel. Einige der Patienten (etwa 50%) leiden unter rekurrenden Infektionen, v.a. der Lunge und des Mittelohrs, andere hingegen sind unbeeinträchtigt. In den meisten Fällen lassen sich abnormale Immunfunktionen erheben. So sind bei BS-Patienten oft, aber nicht immer zu niedrige Konzentrationen einer oder mehrerer Immunglobulinklassen gefunden worden [German 1998]. Dieser Defekt korreliert aber nicht mit der Häufigkeit und dem Schweregrad der Infektionen. Die prozentuale Verteilung der B- und T-Zellen im peripheren Blut ist normal, die In-vitro-Stimulierbarkeit mit Phytohämagglutinin unauffällig. Die proliferative Antwort auf PWM und ConA ist erniedrigt, ebenso die In-vitro-Immunglobulinproduktion auf PWM. BS-Zellen zeigen eine niedrige Expansionsrate im gemischten lymphozytären Stimulationstest. Gewöhnlicherweise zeigen BS-Patienten nachweisbare, aber relativ niedrigere Impftiter.

Die NK-Aktivität der mononukleären Zellen kann vermindert sein, ein Defekt, der durch IL-2-Zugabe normalisiert wird. Die Hautreaktion vom verzögerten Typ fällt in der Regel bei BS-Patienten aus.

1.2.4.3.2 Zytogenetik

Eine der Charakteristika des BS ist die hohe Rate an genomischer Instabilität, so akkumulieren in BS-Zellen mehr Mutationen als bei jeder anderen humanen Erkrankung [German 1993]. Die genomische Instabilität zeigt sich in Chromosomenbrüchen, Translokationen, hoher Spontanmutationsrate in kodierenden Genen und Regionen repetitiver, nicht kodierender DNA [Kaneko et al. 1996]. Am deutlichsten wird der Charakter des BS als Mutatorerkrankung in einer etwa 10fach erhöhten Frequenz von intrachromosomalen Schwesterchromatidaustauschen (SCE) und interchromosomalen Reunionsfiguren (insbesondere Quadriradialfiguren) homologer Chromosomenabschnitte [German et al. 1977].

1.2.4.3.3 Molekularbiologie

Das Bloom-Syndrom-Gen, *BLM*, liegt auf Chromosom 15q26.1 [German et al. 1994]. 1995 wurde das Gen durch die elegante Methode des „somatic crossover mappings“ kloniert [Ellis u. German 1996, Ellis et al. 1995] (Übersicht in: Korn u. Ramlison [1995]). Das Gen kodiert eine mRNA von etwa 4,5 kb, das Protein besteht aus 1.417 Aminosäuren.

Das Mutationsspektrum bei BS-Patienten umfaßt Missense- und Nonsense-Mutationen sowie Deletionen und Insertionen. Die Mehrzahl der Mutationen ergibt einen prämaternen Kettenabbruch, der zu einem instabilen Protein führt. Bei Ashkenazi-Juden gibt es eine „Gründer“(founder)-Mutation, bei der homozygot Erkrankte eine 6-bp-Deletion und 7-bp-Insertion des *BLM* aufweisen.

Immunfluoreszenzanalysen lokalisieren das *BLM*-Protein im Kern. Abhängig vom Zellzyklusstadium kommt es dort zu einer räumlichen Umorganisation. Durch Computeranalysen wurden im *BLM*-Gen Homologien zu den sieben Helikasedomänen des *recQ*-Proteins von *Escherichia coli* gefunden [Ellis et al. 1995]. Die *RecQ*-Familie gliedert sich in zwei Gruppen. Eine Gruppe wird durch *RecQ* selbst repräsentiert, ein Protein, das an der Postreplikationsrekombinationsreparatur beteiligt ist, und durch das humane *RecQL* (steht für *RecQ*-like) mit noch unbekannter Funktion. Die andere Gruppe umfaßt das *BLM*-Gen, das *WRN*-Gen (Werner-Syndrom-Gen) sowie *SGS1*, ein Hefe-*RecQ*-Homologes. Mutationen in jedem dieser Gene verursachen einen Mutatortyp mit gesteigerter Rekombinationsrate und Chromosomeninstabilität (Übersicht in: Ellis [1996]). Chromosomale Aberrationen sowie ein Defekt in der Initiation der DNA-Synthese (*WRN*) und Kettenverlängerung (*BLM*) lassen vermuten, daß diese Gene an der DNA-Replikation bzw. -Rekombination beteiligt sind, obwohl bisher kein DNA-Reparaturdefekt auf der Basis von Mutationen dieser Gene beschrieben wurde. *BLM* könnten auch im Prozeß der somatischen Rekombination und Modifikation der Ig- und TCR-Loci beteiligt sein, was die Genese der Immundefekte bei BS-Patienten verständlich machen würde.

1.2.4.3.4 Diagnose und Therapie

Der klinische Phänotyp sowie die zytogenetischen Aberrationen gelten als pathognomonisch. Eine Genanalyse bei betroffenen Patienten sowie Überträger ist auf Protein- und DNA-Ebene möglich.

Die Therapie des BS ist symptomatisch und orientiert sich zum einen an einer frühzeitigen Diagnose maligner Erkrankungen, zum anderen an einer effektiven Antibiotikatherapie bei pulmonaler Erkrankung. Gezielte Vorsorgemöglichkeiten hinsichtlich der Tumordisposition ergeben sich nicht. Bisher wurde beim BS keine Knochenmarkstransplantation durchgeführt [German 1992].

1.2.4.4 Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS), X-chromosomale Thrombozytopenie (XLT)

Im Jahr 1937 wurde dieses Krankheitsbild erstmals von dem Münchner Pädiater Wiskott beschrieben [Wiskott 1937]. Aldrich et al. erkannten 1954, daß diese seltene Immunerkrankung einem geschlechtsgebundenen Erbgang folgt [Aldrich et al. 1954]. Die molekularen Ursachen des WAS liegen in Mutationen des WASP-Gens auf dem X-Chromosom [Derry et al. 1994]. Die X-chromosomale Thrombozytopenie (XLT) wird ebenfalls durch Mutationen im WASP-Gen charakterisiert und kann als eine mildere Variante des WAS angesehen werden.

1.2.4.4.1 Krankheitsbild

Eine Studie in Nordamerika ermittelte für WAS eine Häufigkeit von 4 Fällen auf 1 Mio. männlicher Geburten [Perry et al. 1980]. Die Erkrankung ist klinisch charakterisiert durch eine Thrombozytopenie bei geringem Volumen der Blutplättchen, durch Ekzeme sowie wiederkehrende Infektionen von Atemwegen und Haut infolge einer Immundefizienz. Des weiteren sind die Patienten einem erhöhten Risiko ausgesetzt, an einem malignen Tumor zu erkranken. Bei 10–15% der WAS-Kinder treten Tumoren im lymphoretikulären System auf. Weitere häufig festgestellte Symptome sind Autoimmunphänomene wie nichtseptische Arthritis, Glomerulonephritis, Asthma sowie andere allergische Manifestationen. Die meisten der betroffenen Kinder haben initial normale Lymphozytenzahlen in der Peripherie. Mit 6–8 Jahren entwickeln sie eine Lymphopenie aufgrund eines Verlusts an T-Zellen. Im Serum sind erhöhte Spiegel an IgA, IgD und IgE und mäßig erniedrigte IgM-Konzentrationen bei normalem IgG-Spiegel festzustellen [Remold-O'Donnell et al. 1996]. Die absoluten Zahlen an B-Zellen bleiben im Normbereich. Das Immunsystem von WAS-Patienten kann aufgrund einer reduzierten B- und T-Lymphozyten-Funktion nicht auf Immunisierungen mit Polysacchariden und

nur schwach auf Immunisierungen mit bestimmten T-Zell-abhängigen Proteinantigenen (ϕ X174) reagieren. Reduzierte, jedoch stets nachweisbare Antworten auf Mitogene weisen auf die beeinträchtigte T-Zell-Funktion hin. Die T-Zellen reagieren oft schwach gegenüber allogenen Zellen. Eine anormale Proliferation nach Stimulation durch immobilisierte anti-CD3 monoklonale Antikörper und Reaktionslosigkeit gegenüber Perjodat kennzeichnen zusätzliche T-Zell-Funktionsdefekte bei WAS [Siminovitch et al. 1995]. Das erste klinische Symptom bei WAS-Patienten ist häufig eine blutige Diarrhö, bedingt durch die Thrombozytopenie [Standen 1991]. Der klinische und immunologische Verlauf der Erkrankung variiert von Patient zu Patient. Kinder mit einem voll ausgeprägten Wiskott-Aldrich-Syndrom sterben in der Regel vor dem Erreichen des 10. Lebensjahrs.

Neben dem „klassischen“ Bild des WAS sind auch phänotypisch mildere Verlaufsformen der Erkrankung beschrieben worden, deren Spektrum bis hin zur X-chromosomalen Thrombozytopenie (XLT) reicht. Beim XLT-Patienten tritt zwar die auch vom WAS bekannte Thrombozytopenie auf, Ekzeme sind jedoch nur in abgemilderter Form zu finden, und eine Dysfunktion des Immunsystems ist klinisch selten und zeigt dann allenfalls einen milden Verlauf [Donner et al. 1988].

1.2.4.4.2 Molekularbiologie

Das WAS-Protein-Gen (WASP-Gen) befindet sich auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms in Region Xp11.23 [Derry et al. 1994]. Es setzt sich aus 12 Exons zusammen, die sich über 9 kb erstrecken. Das WASP-Gen wird ausschließlich in Zellen hämatopoetischen Ursprungs exprimiert [Stewart et al. 1996]. Die zugehörige mRNA umfaßt 1.806 Nukleotide und kodiert ein Protein von 502 Aminosäuren mit einem MG von annähernd 66.000. Bislang konnten fünf Domänen im WASP entschlüsselt werden: zwei sog. WASP-Homologie-Domänen, WH1 und WH2, eine zentrale GTPase-bindende Domäne, eine prolinreiche Domäne sowie eine durch saure Aminosäuren gekennzeichnete Domäne am C-Terminus (Abb. 1.2.11). Zudem trägt das Protein eine potentielle Kernlokalisationssequenz.

Die Funktion des Proteins konnte im Detail noch nicht geklärt werden. Die Kernlokalisationssequenz, die prolinreiche Sequenz sowie der saure C-Terminus deuten auf eine mögliche Rolle als Transkriptionsfaktor hin. Jedoch liegt das WAS-Protein zum größten Teil im Zytoplasma der Zelle

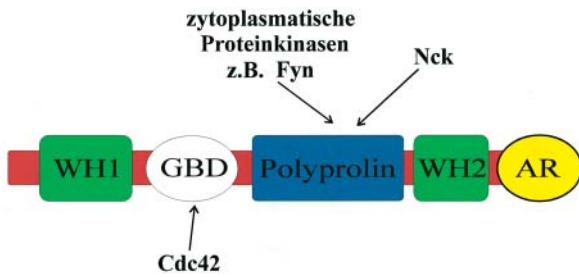


Abb. 1.2.11. Schematische Darstellung der möglichen Interaktionen des WAS-Proteins mit zytoplasmatischen Proteinen, WH1, WH2 WASP-Homologiedomänen, GBD GTPase-bindende Domäne, AR azide Region. Bei WAS-Patienten wurden Mutationen in allen Domänen des WASP-Gens beschrieben

vor, während nur geringe Mengen in Kern- und Membranfraktionen nachgewiesen wurden [Rivero-Lezcano et al. 1995]. In verschiedenen Experimenten konnte eine Interaktion des WAS-Proteins mit der GTPase Cdc42Hs in deren aktivierter GTP-Form nachgewiesen werden [Aspenström et al. 1996, Kolluri et al. 1996, Symons et al. 1996]. Dieses Protein spielt in der Regulation der Zytoskelettorganisation sowie der Aktinpolymerisation einer Zelle eine entscheidende Rolle. Unter anderem ist Cdc42Hs für die Polarisation der T-Zelle während des Kontakts mit antigenpräsentierenden Zellen notwendig. Eine Beeinträchtigung dieses Prozesses durch funktionell gestörtes WASP könnte die geringe Antwort von WAS-Patienten auf T-Zell-abhängige Antigene erklären. Nach Bindung von Cdc42Hs konnte eine Akkumulation von WASP im Aktinskelett nachgewiesen werden, was auf eine Bedeutung dieses Proteins für die Struktur des Zytoskeletts hindeutet. Diese These wird auch durch elektronenmikroskopische Untersuchungen gestützt, mit deren Hilfe signifikante Differenzen im Aufbau des Zytoskeletts sowie der daraus resultierenden Morphologie beim Vergleich von normalen und WAS-T-Zellen ermittelt wurden [Molina et al. 1992].

Mit dem Adapterprotein Nck konnte ein weiterer WASP-Interaktionspartner identifiziert werden [Rivero-Lezcano et al. 1995]. Nck trägt sog. Src-Homologie-3-Domänen (SH3-Domänen), die mit der prolinreichen Sequenz des WAS-Proteins wechselwirken können. Das Nck-Protein besitzt selbst keinerlei enzymatische Aktivität, sondern dient in diversen Signaltransduktionswegen der Zelle als Adapterprotein. Es vermittelt die Interaktion zwischen Proteinen mit SH3-bindenden Domänen und Kinasen, die mit der SH2-Domäne des Nck-Proteins wechselwirken können. Möglicherweise

bewirkt eine gestörte Interaktion zwischen Nck und WASP bei WAS-Patienten eine Unterbrechung von Signalketten in hämatopoetischen Zellen. Dies könnte der Grund dafür sein, daß WAS-B-Zellen nicht mit einer erhöhten Proliferation auf eine Stimulation mit Antiimmunglobulinen reagieren [Simon et al. 1992]. Kürzlich wurde mit der zytoplasmatischen Proteintyrosinkinase Fyn ein weiterer Interaktionspartner von WASP beschrieben [Banin et al. 1996]. Fyn ist ebenfalls ein wichtiger Mediator in diversen Signaltransduktionswegen und tritt, ähnlich wie Nck, über eine SH3-Domäne mit WASP in Kontakt. Weiterhin hat ein funktioneller Defekt in diesem Protein auch Auswirkungen auf die Expression und posttranslationale Modifikation diverser Glykoproteine der Zelloberfläche [Remold-O'Donnell et al. 1984]. Die Ursache für diese ungewöhnlichen Oberflächenantigenmuster sowie deren Effekt auf die Funktion der betroffenen Blutzellen bleibt noch zu klären.

Bislang wurden 167 Mutationen, davon 110 verschiedene, für das WAS-Gen beschrieben (Übersicht in: Schwarz et al. [1996b]). 60% der Mutationen sind Punktmutationen, die zu einem vorzeitigen Stopkodon oder zum Austausch einer Aminosäure auf Proteinebene führen, 13% der Mutationen sind Deletionen und Insertionen, die Verschiebungen des Leserasters bei der Translation verursachen. Die restlichen Mutationen betreffen Intronsequenzen, die für einen korrekten Ablauf der mRNA-Prozessierung benötigt werden. Bei der Verteilung der WASP-Mutationen im Protein ist auffällig, daß v.a. Veränderungen im N-terminalen Bereich des Proteins zu einem Funktionsverlust führen. Die ersten beiden Exons kodieren zwar nur 18% der Aminosäuresequenz, enthalten aber annähernd 50% der Mutationen. Eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation fällt schwer. So finden sich auch bei XLT-Patienten, ähnlich wie bei klassischen WAS-Fällen, Mutationen, die Stopkodons schon im N-terminalen Bereich des Proteins zur Folge haben. Des weiteren kann die gleiche Mutation in verschiedenen Patienten sowohl mit einem typischen WAS, milden WAS-Verlaufsformen oder auch einer X-Thrombozytopenie verbunden sein.

Inzwischen wurde auch eine autosomal-dominant vererbte Form des Wiskott-Aldrich-Syndroms beschrieben, so daß möglicherweise Defekte in anderen Genen in ein Krankheitsbild münden können, das dem X-chromosomalen WAS gleicht [Rocca et al. 1996].

1.2.4.4.3 Diagnose und Therapie

Die klinische Diagnose des Wiskott-Aldrich-Syndroms bzw. der X-chromosomalen Thrombozytopenie wird durch die weitgefächerte und in ihrer Ausprägung stark variierende Symptomatik erschwert. Einen guten Hinweis auf einen WASP-Defekt bietet jedoch eine Thrombozytopenie bei gleichzeitig vermindertem Volumen der Thrombozyten. Auch eine relative Verschiebung der Immunglobulinklassentiter tritt charakteristischerweise bei den Patienten auf: Niedriges IgM, erhöhte Mengen an IgA, IgD und IgE bei normalem IgG [Remold-O'Donnell et al. 1996]. Diagnostisch verwertbar könnte auch die Beobachtung werden, daß periphere T-Lymphozyten von WAS-Patienten mit einer verminderten proliferativen Antwort auf eine Stimulation durch das Mitogen Perjodat reagieren [Siminovitch et al. 1995]. Die Einordnung des restlichen Immunstatus ergibt sich aus dem oben angeführten Immunphänotyp. Mehrere molekularbiologische Ansätze stehen für die Diagnostik des Wiskott-Aldrich-Syndroms zur Verfügung. Bei Überträgerinnen ist in allen hämatopoetischen Zellen jeweils das betroffene X-Chromosom inaktiviert [Wengler et al. 1995]. Durch Isolation und Charakterisierung des WASP-Gens bzw. -Proteins ist es möglich, auf DNA- oder Proteinebene eine Mutation bei einem Kind bzw. einer Überträgerin zu identifizieren.

Eine symptomatische Behandlung von WAS-Patienten zeigt nur in wenigen Fällen, und dann auch nur vorübergehend, Erfolg. Splenektomien können zumindest partiell die Thrombozytopenie günstig beeinflussen. Die Therapie der Wahl ist derzeit die Knochenmarktransplantation, wenn möglich von einem HLA-identischen Spender. Langfristig gesehen ist eine Therapie von WAS bzw. XLT mittels gentherapeutischer Methoden denkbar. Verschiedene Aspekte lassen für diese Erkrankungen einen molekularen Therapieansatz erfolgversprechend erscheinen: Bei WAS/XLT beruht die Symptomatik auf dem Defekt nur eines Gens, zudem ist ausschließlich das hämatopoetische System vom Gendefekt betroffen. Sollte es möglich sein, in den hämatopoetischen Stammzellen die Mutation zu korrigieren, so könnte dies zu einer vollständigen Wiederherstellung der Blutzellfunktionen des Patienten führen.

1.2.5 Ausblick

Eine Vielzahl primärer lymphozytärer Immundefekte konnte in jüngster Zeit über molekulare Techniken pathogenetisch charakterisiert werden. Die Untersuchung und molekulare Definition von Varianten dieser Krankheitsmanifestationen werden zudem einen immer feineren Einblick in das verzweigte immunologische Netzwerk gewähren. Hinweise auf molekulare Defekte ergeben sich auch aus der großen Zahl von Störungen des Immunsystems, die gezielt im murinen System durch Knockout-Modelle geschaffen wurden. Weitere Gene, die in der lymphozytären Entwicklung eine entscheidende Rolle spielen, können durch Vergleiche mit Mutanten des Zebrafischmutageneseprojekts erschlossen werden [Haft et al. 1996].

Zudem gehen zahlreiche Dysmorphiesyndrome mit mehr oder weniger schweren Immundefekten einher [Ming et al. 1996, Rosen 1995], so daß die Identifizierung der diesen Krankheitsbildern zugrundeliegenden Gendefekte Zusammenhänge zwischen entwicklungsbiologischen Prozessen und der Differenzierung des Immunsystems aufdecken wird.

Die detaillierte Kenntnis der Struktur und der Regulation von Genen, die Immundefekte definieren, wird weitere Bemühungen um eine Ex-vivo-Gentherapie der hämatopoetischen Stammzellen nach sich ziehen (Übersicht in: Candotti u. Blaese [1996]). In vitro wird bereits für die Mehrzahl der ID-Gene eine Gensubstitutionstherapie mit retroviralen Vektoren erprobt. Viele dieser Gene unterliegen aber einer engen räumlichen und zeitlichen Regulation. Es ist derzeit noch weitgehend unklar, inwieweit diese Regulationsprozesse für eine korrekte Immunfunktion imitiert werden müssen und wie dieses Ziel erreicht werden kann. Eine Gensatztherapie kann als ein Fernziel angesehen werden. Die hierfür benötigten molekularen Strategien, etwa in Form einer homologen Rekombination, müssen aber zunächst noch für die klinische Anwendung weiterentwickelt werden.

Nach Drucklegung des Kapitels wurden folgende weitere human angeborene Immundefekte berichtet: Agammaglobulinämie durch einen Defekt der Surrogat-leichten-Ig Kette, IL2-Rezeptor- β -Ketten-Defekt, X-Chromosom-gekoppelte Lymphoproliferation (XLP), partieller RAG 1/2 Defekt (Omeun Syndrom) und IL12 sowie IL12 Rezeptor Defekte.

1.2.6 Literatur

- Agrawal A, Schatz DG (1997) RAG1 and RAG 2 form a stable postcleavage synaptic complex with DNA containing signal ends in V(D)J recombination. *Cell* 84:43–53
- Aguet M, Dombic Z, Merlin G (1988) Molecular cloning and expression of the human interferon- γ receptor. *Cell* 55:273–280
- Alarcon B, Regueiro JR, Arnaiz-Villena A, Terhorst C (1988) Familial defect in the surface expression of the T-cell receptor-CD3 complex. *N Engl J Med* 319:1203–1208
- Aldrich RA, Steinberg AG, Campbell DC (1954) Pedigree demonstrating a sex-linked recessive condition characterized by draining ears, eczematoid dermatitis and blood diarrhea. *Pediatrics* 13:133–139
- Andrews LG, Markert ML (1992) Exon skipping in purine nucleoside phosphorylase mRNA processing leading to severe immunodeficiency. *J Biol Chem* 267:7834–7838
- Arnaiz-Villena A, Perez-Aciego P, Ballestin C, Sotelo T, Perez-Seoane C, Matrin-Villa JM, Regueiro JR (1991) Biochemical basis of a novel T lymphocyte receptor immunodeficiency by immunohistochemistry. *Lab Invest* 64:675–681
- Arnaiz-Villena A, Timon M, Corell A, Perez-Aciego P, Martin-Villa JM, Regueiro JR (1992) Primary immunodeficiency caused by mutations in the gene encoding the CD3- γ subunit of the T-lymphocyte receptor. *N Engl J Med* 327:529–533
- Arpaia E, Shahar M, Dadi H, Chen A, Roifman CM (1994) Defective T cell receptor signalling and CD8⁺ thymic selection in humans lacking Zap-70 kinase. *Cell* 76:947–958
- Aspenstroem P, Lindberg U, Hall A (1996) Two GTPases, Cdc42 and Rac, bind directly to a protein implicated in the immunodeficiency disorder Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Biol* 6:70–75
- Aust MR, Andrews LG, Barrett MJ, Norby-Slycord CJ, Markert ML (1992) Molecular analysis of mutations in a patient with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Am J Hum Genet* 51:763–772
- Banin S, Truong O, Katz DR, Waterfield MD, Brickell PM, Gout I (1996) Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) is a binding partner for c-Src protein-tyrosine kinases. *Curr Biol* 6:981–988
- Baskaran R, Wood LD, Whitaker LL, Canman CE, Morgan SE, Xu Y, Barlow C, Baltimore D, Wynshaw-Boris A, Kastan MB, Wang JY (1997) Ataxia telangiectasia mutant protein activates c-Abl tyrosine kinase in response to ionizing radiation. *Nature* 387:516–519
- Behrmann I, Walczak H, Krammer PH (1994) Structure of the human APO-1 gene. *Eur J Immunol* 24:3057–3062
- Bettinardi A, Brugnani D, Quiros-Roldan E, Malagoli A, La Grutta S, Corraera A, Notarangelo LD (1997) Missense mutations in the Fas gene resulting in autoimmune lymphoproliferative syndrome: a molecular and immunological analysis. *Blood* 89:902–909
- Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, Shearer G, Chang L, Chiang Y, Tolstoshev P, Greenblatt JJ, Rosenberg SA, Klein H, Berger M, Mullen CA, Ramsey WJ, Muul L, Morgan RA, Anderson WF (1995) T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 270:475–480
- Boder E, Sedgwick RP (1962) Ataxia-telangiectasia: a review of 101 cases. In: Walsh G (ed) *Clinics in developmental medicine*, ser 8. Cerebellum, posture and cerebral palsy. The National Spastics Society and Hermann Medical Books, London, pp 110–118
- Bontrou S, Steimle V, Ucla C, Eibl MM, Mach B (1997) Two novel mutations in the MHC class II transactivator C II TA in a second patient from MHC class II deficiency complementations group A. *Hum Genet* 99:541–546
- Bordignon C, Notarangelo LD, Nobili N, Ferrari G, Casorati G, Panina P, Mazzolari E, Maggioni D, Rossi C, Servida P, Ugazio AG, Mavilio F (1995) Gene therapy in peripheral blood lymphocytes and bone marrow for ADA-immunodeficient patients. *Science* 270:470–474
- Bruton OC (1952) Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 9:722–727
- Burtin P (1961) Un exemple d'agammaglobulinémie atypique (un cas de grande hypogammaglobulinémie avec augmentation de la γ_2 -macroglobuline). *Rev Fr Etud Clin Biol* 6:286–289
- Byrd PJ, McConville CM, Cooper P, Parkhill J, Stankovic T, McGuire GM, Thick JA, Taylor AMR (1996) Mutations revealed by sequencing the 5-prime half of the gene for ataxia telangiectasia. *Hum Mol Genet* 5:145–149
- Candotti F, Blaese RM (1996) The use of gene therapy for immunodeficiency disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 16:683–726
- Candotti F, Johnston JA, Puck JM, Sugamura K, O'Shea JJ, Blaese RM (1996a) Retroviral-mediated gene correction for X-linked severe combined immunodeficiency. *Blood* 87:3097–3102
- Candotti F, Oakes SA, Johnston JA, Notarangelo LD, O'Shea JJ, Blaese RM (1996b) In vitro correction of JAK3-deficient severe combined immunodeficiency by retroviral-mediated gene transduction. *J Exp Med* 183:2687–2692
- Castigli E, Pahwa R, Good RA, Geha RS, Chatila TA (1993) Molecular basis of a multiple lymphokine deficiency in a patient with severe combined immunodeficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:4728–4732
- Chan AC, Iwashima M, Turck CW, Weiss A (1992) ZAP-70: a 70kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR ζ chain. *Cell* 71:649–662
- Chan AC, Desai DM, Weiss A (1994a) The role of protein kinases and protein tyrosine phosphatases in T cell antigen receptor signal transduction. *Annu Rev Immunol* 12:555–592
- Chan AC, Kadlecik TA, Elder ME, Filipovich AH, Kuo W-L, Iwashima M, Parslow TG, Weiss A (1994b) ZAP-70 deficiency in an autosomal recessive form of severe combined immunodeficiency. *Science* 264:1599–1601
- Chang CH, Flavell RA (1995) Class II transactivator regulates the expression of multiple genes involved in antigen presentation. *J Exp Med* 181:765–767
- Chatila T, Castigli E, Pahwa R, Pahwa S, Cirmule N, Oyaizu N, Good RA, Geha RS (1990) Primary combined immunodeficiency resulting from defective transcription of multiple T-cell lymphokine genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:10033–10037
- Cheng G, Ye ZS, Baltimore D (1994) Binding of Burton's tyrosine kinase to Fyn, Lyn or Hck through a Src homology 3 domain-mediated interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:8152–8155
- Clevers HC, Dunlap S, Wileman TE, Terhorst C (1988) Human CD3-epsilon gene contains three minixons and is transcribed from a non-TATA promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:8156–8160
- Cooper MD, Peterson RDA, Good RA (1965) A new concept of the cellular basis of immunology. *J Pediatr* 67:907–908

- Cresswell P (1994) Antigen presentation. Getting peptides into MHC class II molecules. *Curr Biol* 4:541–543
- Dallapiccola B, Pizutti A, Novelli G (1996) How many breaks do we need to CATCH on 22q11?. *Am J Hum Genet* 59:7–11
- Davis CB, Littmann DR (1994) Thymocyte lineage commitment: Is it instructed or stochastic? *Curr Opin Immunol* 6:266–272
- Daw SC, Taylor C, Kraman M, Call K, Mao J, Schuffenhauer S, Meitinger T, Lipson T, Goodship J, Scambler P (1996) A common region of 10p deleted in DiGeorge and velocardiofacial syndromes. *Nat Genet* 12:458–460
- De la Chapelle AR, Herva R, Koivisto M, Aula P (1981) A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge syndrome. *Hum Genet* 57:253–256
- De la Salle H, Hanau D, Fricker D, Urlacher A, Kelly A, Salamerio J, Powis SH, Donato L, Bausinger H, Laforet, Jeras M, Spehner D, Bieber T, Falkenrodt A, Cazenave J-P, Trowsdale J, Tongio M-M (1994) Homozygous human TAP peptide transporter mutation in HLA class I deficiency. *Science* 265:237–241
- De Préal C, Lisowska-Grospierre B, Coche M, Griscelli C, Mach B (1985) A trans class II regulatory gene unlinked to the MHC controls expression of HLA class II genes. *Nature* 318:291–293
- De Préal C, Hadam MR, Mach B (1988) Regulation of genes for HLA class II antigens in cell lines from patients with severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 318:1295–1300
- De Saint Basile GD, Arveiler B, Oberle I, Malcom S, Levinsky RJ, Lau YL, Hofker M, Debre M, Griscelli C, Mandel JL (1987) Close linkage of the locus for X chromosome-linked severe combined immunodeficiency to polymorphic DNA markers in Xq11–Xq13. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:7576
- Derry JM, Ochs HD, Francke U (1994) Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. *Cell* 78:635–644
- Difilippantonio MJ, McMahan CJ, Eastman QM, Spanopoulou E, Schatz D (1996) RAG 1 mediates signal sequence recognition and recruitment of RAG 2 in V(D)J recombination. *Cell* 87:253–262
- DiGeorge AM (1986) Congenital absence of the thymus and its immunologic consequences: concurrence with congenital hypothyroidism. *Birth Defects* 4:116–121
- DiSanto JP, Keever CA, Small TN, Nichols GL, O'Reilly RJ, Flomenberg N (1990) Absence of interleukin 2 production in a severe combined immunodeficiency disease syndrome with T cells. *J Exp Med* 171:1697–1704
- Donner M, Schwartz M, Carlsson KU, Holmberg L (1988) Hereditary X-linked thrombocytopenia maps to the same chromosomal region as the Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood* 72:1849–1853
- Drappa J, Vaishnav AK, Sullivan KE, Chu J-L, Elkon K (1996) Fas gene mutations in the Canale-Smith syndrome, an inherited lymphoproliferative disorder associated with autoimmunity. *N Engl J Med* 335:1643–1649
- Durand B, Seperiseu P, Emery P, Barras E, Zufferey M, Mach B, Reith W (1997) RFXAP, a novel subunit of the RFX DNA binding complex is mutated in MHC class II deficiency. *EMBO J* 16:1045–1055
- Durandy A, Hivroz C, Mazevolles F, Schiff C, Bernard F, Jouanguy E, Revy P, DiSanto JP, Gauchat JF, Bonnefoy JY, Casanova JL, Fischer A (1997) Abnormal CD40-mediated activation pathway in B lymphocytes from patients with Hyper-IgM syndrome and normal CD40 ligand expression. *J Immunol* 158:2576–2584
- Dwenger A, Trautschold I (1983) Purine-nucleoside phosphorylase. In: Bergmeyer H (ed) *Methods of enzymatic analysis*, vol III. VCH, Weinheim, pp 382–392
- Elder M. (1996) Severe combined immunodeficiency due to a defect in the tyrosine kinase ZAP-70. *Pediatr Res* 39:743–748
- Elder ME, Lin D, Clever J, Chan AC, Hope TJ, Weiss A, Parslow TG (1994) Human severe combined immunodeficiency due to a defect in ZAP-70, a T cell tyrosine kinase. *Science* 264:1596–1599
- Ellis NA (1996) Mutation-causing mutations. *Nature* 381:110–111
- Ellis NA, German J (1996) Molecular genetics of Bloom's syndrome. *Hum Mol Genet* 5:1457–1463
- Ellis NA, Groden J, Ye T-Z, Straughen J, Lennon DJ, Ciocci S, Proytcheva M, German J (1995) The Bloom's syndrome gene product is homologous to Rec Q helicases. *Cell* 83:655–666
- Emile JF, Patey N, Altare F, Lamhamedi S, Jouanguy E, Boman F, Quillard J, Lecomte-Houcke M, Verola O, Mousnier JF, Dijoud F, Blanche S, Fischer A, Brousse N, Casanova JL (1997) Correlation of granuloma structure with clinical outcome defines two types of idiopathic disseminated BCG infection. *J Pathol* 181:25–30
- Evans GA, Lewis KA, Lawless GM (1988) Molecular organization of the human CD3 gene family on chromosome 11q23. *Immunogenetics* 28:365–373
- Farrar MA, Schreiber RD (1993) The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Ann Rev Immunol* 11:571–611
- Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, Dale JK, Middleton LA, Lin AY, Strober W, Lenardo MJ, Puck JM (1995) Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 81:935–946
- Fitzgerald MG, Beau JM, Hedge SR, Unsial H, MacDonald DJ, Haskin DP, Finkelstein DM, Isselbacher KJ, Haber DA (1997) Heterozygous ATM mutations do not contribute to early onset of breast cancer. *Nat Genet* 15:307–310
- Fromenberg N, Dupont B, O'Reilly RJ, Hayward A, Pollack MS (1983) The use of T cell culture techniques to establish the presence of an intra-uterine derived maternal T cell graft in a patient with SCID. *Transplantation* 5:327–332
- Gatti RA, Berkel I, Boder E, Braedt G, Charmley P, Concannon P, Ersoy F, Foroud T, Jaspers NGJ, Lange K et al. (1988) Localization of an ataxia teleangiectasia gene to chromosome 11q22–23. *Nature* 336:577–580
- German J (1992) Blooms syndrome: incidence, age of onset and types of leukemia in the Bloom's syndrome registry. In: Bartsocas CS, Lonkepoulos D (eds) *Genetics of hematologic disorders*. Hemisphere Publishers, Washington, DC, pp 241–258
- German J (1993) Bloom-syndrome: A mendelian prototype of somatic mutational disease. *Medicine* 72:393–406
- German J [1995] Bloom's syndrome. *Dermatol Clin* 13:7–18
- German J (1997) Bloom's syndrome. XX. The first 100 cancers. *Cancer Genet Cytogenet* 93:100–106
- German J (1998) Disturbed immune function in Bloom's syndrome. In: Smith CIE, Ochs HD (eds) *Primary immunodeficiency diseases, a molecular and genetic approach*. Oxford University Press, Oxford

- German J, Passarge E (1989) Bloom's syndrome. XII. Report from the registry for 1987. *Clin Genet* 35:57-69
- German J, Schonberg S, Lowie E, Chaganti RSK (1977) Bloom's syndrome IV. Sister chromatid exchange in lymphocytes. *Am J Hum Genet* 29:248-255
- German J, Roe AM, Leppert M, Ellis NA (1994) Bloom syndrome: an analysis of consanguineous families assigns the locus mutated to chromosome band 15q26.1. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6669-6673
- Gilad S, Khosravi R, Shkedy D, Uziel T, Ziv Y, Savitsky K, Rotman G, Smith S, Chessa L, Jorgensen TJ, Harnik R, Frydman M, Sanal O, Portnoi S, Goldwicz Z, Jaspers NGJ, Gatti RA, Lenoir G, Lavin MF, Tatsumi K, Wegner RD, Shiloh Y, Bar-Shira A (1996) Predominance of null mutations in ataxia teleangiectasia. *Hum Mol Genet* 5:433-439
- Glimcher LH, Kara CJ (1992) Sequences and factors: a guide to MHC class II transcription. *Ann Rev Immunol* 10:13-44
- Gold DP, Puck JM, Petty CL, Cho M, Coligan J, Woody JN, Terhorst C (1986) Isolation of cDNA clones encoding the 20K non-glycosylated polypeptide chain of the human T-cell receptor/T3 complex. *Nature* 321:431-434
- Gong W, Emanuel BS, Galili N, Kim DH, Roe B, Driscoll DA, Budarf ML (1997) Structural and mutational analysis of a conserved gene (DGS1) from the minimal DiGeorge syndrome critical region. *Hum Mol Genet* 6:267-276
- Greenberg E, Elder FFB, Haffner P, Northrup H, Ledbetter DH (1988) Cytogenetic findings in a prospective series of patients with DiGeorge anomaly. *Am J Hum Genet* 43:605-611
- Griscelli C, Lisowska-Grospierre B, Mach B (1979) Combined immunodeficiency with defective expression in MHC class II genes. *Immunodef Rev* 1:135-153
- Hacien-Bey S, Cavazzana-Calvo M, Le Deist F, Cautry-Varsat A, Hivroz C, Riviere I, Danos O, Heard JM, Sugamura K, Fischer A, De Saint Basile G (1996) γ c gene transfer into SCID X1 patients' B cell lines restores normal high-affinity interleukin-2 receptor expression and function. *Blood* 87:3108-3116
- Haft P, Granato M, Brand M, Mullins MC, Hammer-schmidt M, Kane DA, Odenthal J, Eeden FJM van, Jiang Y-J, Heisenberg C-P, Kelsh RN, Farutani-Seiki M, Vogel-sang E, Beuchle D, Schack U, Fabian C, Nüsslein-Volhard C (1996) The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123:1-36
- Harnden DG (1994) The nature of ataxia-teleangiectasia: problems and perspectives. *Int J Radiat Biol [Suppl 6]* 66:13-19
- Harris VJ, Seeler RA (1973) Ataxia-teleangiectasia and Hodgkin's disease. *Cancer* 32:1415-1420
- Hershfield MS, Buckley RH, Greenberg ML (1987) Treatment of adenosine deaminase deficiency with PEG modified ADA. *N Engl J Med* 316:589-596
- Hiom K, Gellert M (1997) A stable RAG 1-RAG 2-DNA complex that is active in V(D)J cleavage. *Cell* 88:65-72
- Hirschhorn R (1990) Adenosine deaminase deficiency. *Immunodef Rev* 2:175-198
- Hirschhorn R (1992) Prenatal diagnosis of adenosine deaminase deficiency and selected other immunodeficiencies. In: Milunski A (ed) *Genetic disorders and the fetus: diagnosis, prevention and treatment*, 3rd edn. Plenum Press, New York, pp 453-464
- Hirschhorn R (1995) Adenosine deaminase deficiency: molecular basis and recent developments. *Clin Immunol Immunopathol* 76:219-227
- Hirschhorn R, Israni A, Yang DR, Ownby D (1994) Somatic mosaicism for a newly identified splice site mutation in a patient with adenosine deaminase deficient immunodeficiency (ADA-CID) and spontaneous recovery. *Am J Hum Genet* 55:59-68
- Hirschhorn R, Yang DR, Puck JM, Huie ML, Jiang CK, Kur-landsky LE (1996) Spontaneous in vivo reversion to normal of an inherited mutation in a patient with adenosine deaminase deficiency. *Nat Genet* 13:290-295
- Hitzig WH, Biro Z, Bosch H, Huser HJ (1958) Agammaglobulinämie und P lymphozytose mit Schwund des lymphatischen Gewebes. *Helv Paediatr Acta* 13:551-585
- Hivroz C, Fischer A (1994) Multiple roles for ZAP-70. *Curr Biol* 4:731-733
- Hollenbaugh D, Wu LH, Ochs HD, Nonoyama S, Grosmaire LS, Ledbetter JA, Noelle RJ, Hill H, Aruffo A (1994) The random inactivation of the X chromosome carrying the defective gene responsible for X-linked hyper IgM syndrome (X-HIGM) in female carriers of HIGM1. *J Clin Invest* 94:616-622
- Houlsworth J, Lavin MF (1980) Effect of ionizing radiation on DNA synthesis in ataxia teleangiectasia. *Nucleic Acids Res* 8:3704-3720
- Ihle JN (1995) Cytokine receptor signalling. *Nature* 377:591-594
- Inazawa J, Itoh N, Abe T, Nagata S (1992) Assignment of the human Fas antigen gene (FAS) to 10q24.1. *Genomics* 14:821-822
- Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, Mizushima S, Sameshima M, Hase A, Seto Y, Nagata S (1991) The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 66:233-243
- Jaspers NGJ, Gatti RA, Baan C, Linssen PCMC, Bootsma D (1988) Genetic complementation analysis of ataxia teleangiectasia and Nijmegen breakage syndrome: a survey of 50 patients. *Cytogenet Cell Genet* 49:259-263
- Johnston JA, Kawamura M, Kirken RA, Chen Y-Q, Blake TB, Shibuya K, Ortaldo JR, McVicar DW, O'Shea JJ (1994) Phosphorylation and activation of the Jak-3 Janus kinase in response to interleukin-2. *Nature* 370:151-153
- Jorgensen TJ, Shiloh Y (1996) The ATM gene and the radiobiology of ataxia teleangiectasia. *Int J Radiat Biol* 69:527-537
- Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, Revy P, Emile J-F, Newport M, Levin M, Blanche S, Seboun E, Fischer A, Casanova J-L (1996) Interferon-gamma-receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guerin infection. *N Engl J Med* 335:1956-1961
- Jung M, Kondratyev A, Lee SA, Dimitech A, Dritschilo A (1997) ATM gene product phosphorylates I kappa B-alpha. *Cancer Res* 57:24-27
- Kameoka J, Tanaka T, Nojima I, Schlossman SE, Morimoto C (1993) Direct association of adenosine deaminase with a T cell activation antigen CD26. *Science* 261:466-469
- Kaneko H, Inoue R, Yamada Y, Sukegawa K, Fukao T, Tashita H, Teramoto T, Kusakara K, Takami T, Kondo N (1996) Microsatellite instability in B-cell lymphoma originating from Bloom syndrome. *Int J Cancer* 69:480-483
- Kappes DJ, Alarcon B, Regueiro JR (1995) T lymphocyte receptor deficiencies. *Curr Opin Immunol* 7:441-447

- Kara CJ, Glimcher LH (1991) In vivo footprinting of MHC class II genes: bare promoters in the bare lymphocyte syndrome. *Science* 252:709–712
- Kastan MB, Zhan Q, El-Deiry WS, Carrier F, Jacks T, Walsh WV, Plunkett BS, Vogelstein B, Fronace AJ Jr (1992) A mammalian cell cycle check-point pathway utilizing p53 and GADP 45 is defective in ataxia teleangiectasia. *Cell* 71:587–597
- Katz F, Hinselwood S, Rutland P, Jones A, Kinnon C, Morgan G (1996) Mutation analysis in CD40 ligand deficiency leading to X-linked hypogammaglobulinemia with hyper IgM syndrome. *Hum Mutat* 8:223–228
- Kawamura M, McVicar DW, Johnston JA, Blake TB, Chen YQ, Lal BK, Lloyd AR, Kelvin DJ, Staples JE, Ortaldo JR, O'Shea JJ (1994) Molecular cloning of L-JAK, a Janus family protein-tyrosine kinase expressed in natural killer cells and activated leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6374–6378
- Kitamura D, Roes J, Kühn R, Rajewski K (1991) A B-cell deficient mouse by targeted disruption of the membrane exon of the immunoglobulin mu chain gene. *Nature* 350:423–426
- Klein C, Lisowska-Grospierre B, Le Deist T, Fischer A, Griscelli C (1993) Major histocompatibility complex class II deficiency: clinical manifestations, immunologic features, and outcome. *J Pediatr* 123:921–928
- Knobloch C, Goldmann SE, Friedrich W (1991) Limited T cell receptor diversity of transplacental acquired maternal T cells in severe combined immunodeficiency. *J Immunol* 146:4157–4162
- Kojir TL, Gatti RA, Sparkers RS (1991) The cytogenetics of ataxia teleangiectasia. *Cancer Genet Cytogenet* 56:143–156
- Kolluri R, Tolia KF, Carpenter CL, Rosen FS, Kirchhausen T (1996) Direct interaction of the Wiskott-Aldrich protein with the GTPase Cdc42. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5615–5618
- Korn R, Ramiksson Y (1995) Mapping to the point. *Nature* 378:557
- Krammer PH, Dhein J, Walczak H, Behrmann I, Mariani S, Matiba B, Fath M, Daniel PT, Knipping E, Westendorp MO, Stricker K, Bäumler C, Hellbardt S, Germer M, Peter ME, Debatin K-M (1994) The role of APO-1-mediated apoptosis in the immune system. *Immunol Rev* 142:175–191
- Kroczyk RA, Graf D, Brugnani D, Giliani S, Korthauer U, Ugazio A, Senger G, Mages HW, Villa A, Notarangelo LD (1994) Defective expression of CD40 ligand on T cell causes X-linked immunodeficiency with hyper IgM (HIGM1). *Immunol Rev* 138:39–59
- Kurlandsy LE, Webb P, Hirschhorn R (1993) Partial adenosine deaminase in an immunodeficient child. *Pediatr Allergy Immunol* 7:51–55
- Lai SY, Xu W, Gaffen SL, Liu KD, Longmore GD, Greene WC, Goldsmith MA (1996) The molecular role of the common γ c subunit in signal transduction reveals functional asymmetry within multimeric receptor complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:231–235
- Lambert M, Van Eggermond M, Mascart F, Dupont E, Elsen P van der (1992) TCR V α - and V β -gene segment use in T-cell subcultures derived from a type-III bare lymphocyte syndrome deficient in MHC class II expression. *Dev Immunol* 2:227–236
- Lavin MF, Shiloh Y (1997) The genetic defect in ataxia teleangiectasia. *Annu Rev Immunol* 15:177–202
- Le Coniat M, Alcaide-Loridan C, Fellous M, Berger R (1989) Human interferon gamma receptor 1 (IFNGR1) gene maps to chromosome region 6q23–6q24. *Hum Genet* 84:92–94
- Le Deist F, Fischer A (1996) Primary T cell immunodeficiencies. In: Rich RR, Fleischer TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W (eds) *Clinical immunology, principles and practice*. Mosby, St Louis, pp 637–661
- Le Deist F, Thoenes G, Corado J, Lisowska-Grospierre B, Fischer A (1991) Immunodeficiency with low expression of the T cell receptor/CD3 complex. Effect on T lymphocyte activation. *Eur J Immunol* 21:1641–1647
- Leonard WJ, Noguchi M, Russell SM, McBride OW (1994) The molecular basis of X-linked severe combined immunodeficiency: the role of the interleukin-2 receptor γ chain as a common γ chain, γ c. *Immunol Rev* 138:61–86
- Levin M, Newport MJ, D'Souza S, Kalabalikis P, Brown IN, Lenicker HM, Agius PV, Davies EG, Thrasher A, Klein N, Blackwell JM (1995) Familial disseminated atypical mycobacterial infection in childhood: a human mycobacterial susceptibility gene? *Lancet* 345:79–83
- Lewis SM (1994) The mechanism of V(D)J joining: lessons from molecular, immunological, and comparative analyses. *Adv Immunol* 56:27–150
- Li X, Ho SN, Luna J, Giacalone J, Thomas DJ, Timmermann LA, Crabtree GR, Francke U (1995) Cloning and chromosomal localization of the human and murine genes for the T-cell transcription factors NFATc and NFATp. *Cytogenet Cell Genet* 68:185–191
- Lieber MR, Grawunder U, Wu X, Yaneva M (1997) Tying loose ends: roles of KU and DNA-dependent protein kinase in the repair of double-strand breaks. *Curr Opin Genet Dev* 7:99–104
- Lin Q, Rohrer J, Allen RC, Larche M, Greene JM, Shigeoka AO, Gatti RA, Derauf DC, Belmont JW, Conley ME (1996) A single strand conformation polymorphism study of CD40 ligand: efficient mutation analysis and carrier detection of X-linked hyper IgM syndrome. *J Clin Invest* 97:196–201
- Linet MS (1985) *The leukemias, epidemiologic aspects*. Oxford University Press, Oxford
- Lisowska-Grospierre B, Charron DJ, Prével C de, Durandy A, Griscelli C, Mach B (1985) A defect in the regulation of major histocompatibility complex class II gene expression in human HLA-DR negative lymphocytes from patients with combined immunodeficiency syndrome. *J Clin Invest* 76:381–385
- Lisowska-Grospierre B, Fondaneche MC, Rols MP, Griscelli C, Fischer A (1994) Two complementation groups account for most cases of inherited class II deficiency. *Hum Mol Genet* 3:953–958
- Macchi P, Villa A, Strina D, Sacco MG, Morali F, Brugnani D, Giliani S, Mantuano E, Fasth A, Andersson B, Zegers BJM, Cavagni G, Reznick I, Levy J, Zan-Bar I, Porat Y, Airo P, Plebani A, Vezzoni P, Notarangelo LD (1995a) Characterization of nine novel mutations in the CD40 ligand gene in patients with X-linked hyper IgM syndrome of various ancestry. *Am J Hum Genet* 56:898–906
- Macchi P, Villa A, Giliani S, Sacco MG, Frattini A, Porta F, Ugazio AG, Johnston JA, Candotti F, O'Shea JJ, Vezzoni P, Notarangelo LD (1995b) Mutations of Jak-3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature* 377:65–68

- Mach B, Steimle V, Martinez-Soria E, Reith W (1996) Regulation of MHC class II genes: lessons from a disease. *Annu Rev Immunol* 14:301–331
- Markert ML (1991) Purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Immunodef Rev* 3:45–81
- McBlane JF, Gent DC van, Ramsden DA, Romeo C, Cuomo CA, Gellert M, Oettinger MA (1996) Cleavage at a V(D)J recombination signal requires only RAG 1 and RAG 2 proteins and occurs in two steps. *Cell* 83:387–395
- Merlin G, Van der Leede BJM, McKune K, Knezevic N, Bannwarth W, Romquin N, Viegas-Pequignot E, Kiefer H, Aguet M, Dembic Z (1997) The gene for the ligand binding chain of the human interferon gamma receptor. *Immunogenetics* 45:413–421
- Ming JE, Stiehm ER, Graham JM Jr (1996) Immunodeficiency as a component of recognizable syndromes. *Am J Med Genet* 66:378–398
- Mitchell BS, Mejias E, Daddona PE, Kelley WN (1978) Purinogenic immunodeficiency diseases: selective toxicity of deoxyribonucleosides for T-cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:5011–5014
- Molina IJ, Kenney DM, Rosen FS, Remold-O'Donnell E (1992) T-cell lines characterize events in the pathogenesis of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Exp Med* 176:867–874
- Momburg F, Neefjes JJ, Hämmerling GJ (1994) Peptide selection by MHC-encoded TAP transporters. *Curr Opin Immunol* 6:32–37
- Monaco JJ (1993) Structure and function of genes in the MHC class II region. *Curr Opin Immunol* 5:17–20
- Morgan SE, Louly C, Pandita TK, Shiloh Y, Kasten MB (1997) Fragments of ATM which have dominant-negative or complementing activity. *Mol Cell Biol* 17:2020–2024
- Mountz JD, Zhou T, Wu J, Wang W, Su X, Cheng J (1995) Regulation of apoptosis in immune cells. *J Clin Immunol* 15:1–16
- Nagata S, Golstein P (1995) The Fas death factor. *Science* 267:1449–1456
- Nelson DM, Butters KA, Markert ML, Reinsmoen NL, McIvor RS (1995) Correction of proliferative responses in purine nucleoside phosphorylase (PNP)-deficient T lymphocytes by retroviral-mediated PNP gene transfer and expression. *J Immunol* 154:3006–3014
- Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, Levin M (1996) A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 335:1941–1949
- Noguchi M, Yi H, Rosenblatt HM, Filipovich AH, Adelstein S, Modi WS, McBride OW, Leonard WJ (1993) Interleukin receptor γ chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* 73:147–157
- Northrop JP, Ho SN, Chen L, Thomas DJ, Timmermann LA, Nolan GP, Admon A, Crabtree GR (1994) NF-AT components define a family of transcription factors targeted in T-cell activation. *Nature* 369:497–502
- Notarangelo LD, Duse M, Ugazio AG (1992a) Immunodeficiency with hyper-IgM (HIM). *Immunodef Rev* 3:101–122
- Notarangelo LD, Stoppoloni G, Toraldo R, Mazzolari E, Coletta A, Airo P, Bordignon C, Ugazio AG (1992b) Insulin dependent diabetes mellitus and severe atopic dermatitis in a child with adenosin deaminase deficiency. *Eur J Pediatr* 151:811–814
- Ochs HD, Smith CIE (1996) X-linked agammaglobulinemia: a clinical and molecular analysis. *Medicine (Baltimore)* 75:287–299
- Oettinger MA, Schatz DG, Gorka C, Baltimore D (1990) RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science* 248:1517–1523
- Oettinger MA, Stanger B, Schatz DG, Glaser T, Call K, Housman D, Baltimore D (1992) The recombination activating genes, RAG 1 and RAG 2, are on chromosome 11p in humans and chromosome 2p in mice. *Immunogenetics* 35:97–101
- Ortmann B, Androlewicz MJ, Cresswell P (1994) MHC class I/2-microglobulin complexes associate with TAP transporters before peptide binding. *Nature* 368:864–867
- Pahwa R, Chatila T, Pahwa S, Paradise C, Day NK, Geha R, Schwartz SA, Slade H, Oyaizu N, Good RA (1989) Recombinant interleukin 2 therapy in severe combined immunodeficiency disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:5069–5073
- Palacios J, Gamallo C, Garcia M, Rodriguez JI (1993) Decrease in thyrocalvitonin-containing cells and analysis of other congenital anomalies in 11 patients with DiGeorge anomaly. *Am J Med Genet* 46:641–646
- Pannicke U, Tuchschild P, Friedrich W, Bartram CR, Schwarz K (1996) Two novel missense and frameshift mutations in exon 5 and 6 of the purine nucleoside phosphorylase (PNP) gene in a severe combined immunodeficiency (SCID) patient. *Hum Genet* 32:927–933
- Parks RE Jr, Agarwal RP (1972) Purine nucleoside phosphorylase. In: Boyer PD (ed) *The enzymes*, vol VII, 3rd edn. Academic Press, New York, p 483–514
- Perry GS III, Spector BD, Schuman LM, Mandel JS, Anderson VE, McHugh RB, Hanson MR, Fahlstrom SM, Krivit W, Kersey JH (1980) The Wiskott-Aldrich syndrome in the United States and Canada (1892–1979). *J Pediatr* 97:72–78
- Puck JM, Deschenes SM, Porter JC, Dutra AS, Brown CJ, Willard HF, Henthorn PS (1993) The interleukin-2 receptor γ chain maps to Xq13.1 and is mutated in X-linked severe combined immunodeficiency, SCIDX1. *Hum Mol Genet* 2:1099–1104
- Puck JM, De Saint Basile G, Schwarz K, Fugmann S, Fischer RE (1996) ILRGbase: a database of γ c-chain defects causing human X-SCID. *Immunol Today* 17:507–511
- Ramesh N, Fuleihan R, Geha R (1994) Molecular pathology of X-linked immunoglobulin deficiency with normal or elevated IgM (HIGMX-1). *Immunol Rev* 138:87–104
- Ramsden DA, Baetz K, Wu GE (1994) Conservation of sequence in recombination signal sequence spacers. *Nucleic Acids Res* 22:1785–1796
- Rane SG, Reddy EP (1994) JAK3: a novel JAK kinase associated with terminal differentiation of hematopoietic cells. *Oncogene* 9:2415–2423
- Ratech H, Greco MA, Gallo G, Rimoin DL, Kamino H, Hirschhorn R (1985) Pathologic findings in adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. I. Kidney, adrenal and chondro-osseous tissue alterations. *Am J Pathol* 120:157–169
- Rawlings DJ, Witte ON (1994) Bruton's tyrosine kinase is a key regulator in B-cell development. *Immunol Rev* 138:105–119
- Regueiro JR, Arnaiz-Villena A, De Landazuri MO, Martin-Villa JM, Vicario JL, Pascual-Ruiz V, Guerra-Garcia F, Alcamí J, Lopez-Botet M, Manzanares J (1986) Familial defect of CD3 (T3) expression by T cells associated with rare gut epithelial cell autoantibodies. *Lancet* 1:1274–1275

- Reith W, Satola S, Herrero Sanchez C, Amaldi I, Lisowska-Groszpiere B, Griscelli C, Hadam MR, Mach B (1988) Congenital immunodeficiency with a regulatory defect in MHC class II gene expression lacks a specific HLA-DR promotor binding protein RF-X. *Cell* 53:897-906
- Reith W, Siegrist CA, Durand B, Barras E, Mach B (1994a) Function of major histocompatibility complex class II promoters requires cooperation binding between factors RFX and NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:554-558
- Reith W, Kober M, Emery P, Durand B, Siegrist CA, Mach B (1994b) Cooperative binding between factors RFX and X2 bp to the X and X2 boxes of MHC class II promoters. *J Biol Chem* 269:20020-20025
- Remold-O'Donnell E, Kenney DM, Parkman R, Cairns L, Savage B, Rosen FS (1984) Characterization of a human lymphocyte surface sialoglycoprotein that is defective in Wiskott-Aldrich syndrome. *J Exp Med* 159:1705-1723
- Remold-O'Donnell E, Rosen FS, Kenney DM (1996) Defects in Wiskott-Aldrich syndrome blood cells. *Blood* 87:2621-2631
- Ricciuti F, Ruddle FH (1973) Assignment of nucleoside phosphorylase to D-14 and localization of X-linked loci in man by somatic cell genetics. *Nature New Biol* 241:180-182
- Riedy MC, Dutra AS, Blake TB, Modi W, Lal BK, Davis J, Bosse A, O'Shea JJ, Johnston JA (1996) Genomic structure, organization, and chromosomal localization of human JAK3. *Genomics* 37:57-61
- Rieux-Laucat F, Le Deist F, Hivroz C, Roberts IAG, Debatin KM, Fischer A, De Villartay JP (1995) Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. *Science* 268:1347-1349
- Rivero-Lezcano OM, Marcilla A, Sameshima JH, Robbins KC (1995) Wiskott-Aldrich syndrome protein physically associates with Nck through Src homologue domains. *Mol Cell Biol* 15:5725-5731
- Rocca B, Bellacosa A, De Cristofaro R, Neri G, Della Ventura M, Maggiano N, Rumi C, Landolfi R (1996) Wiskott-Aldrich syndrome: report of an autosomal dominant variant. *Blood* 87:4538-4543
- Rodgers KK, Bu Z, Fleming KH, Schatz DG, Engelman DM, Coleman JE (1996) A unique zinc-binding dimerization motif domain in RAG-1 includes the C₃HC₄ motif. *J Mol Biol* 260:70-84
- Roifman CM, Hummel D, Martinez-Valdez H, Thorner P, Doherty PJ, Pan S, Cohen E, Cohen A (1989) Depletion of CD8+ cells in human thymic medulla results in selective immune deficiency. *J Exp Med* 170:2177-2182
- Rosen FS (1995) für die WHO Scientific Group on Primary Immunodeficiency Diseases. Primary immunodeficiency diseases. *Clin Exp Immunol [Suppl 1]* 99:1-24
- Rosen FS, Kevy SV, Merler E, Janeway CA, Gitlin G (1961) Recurrent bacterial infections and dysgammaglobulinemia: deficiency of 7S gammaglobulins in the presence of elevated 19S gammaglobulins. *Pediatrics* 28:182-195
- Rotman G, Shiloh Y (1996) Ataxia teleangiectasia: linking immunodeficiency, neurodegeneration and cancer to defects in signal transduction and cell cycle checkpoints. In: Fasth A, Björkander J (eds) *Progress in immunodeficiency*. Excerpta Medica International Congress, Series 1.121, Elsevier, Amsterdam New York, pp 41-52
- Russell JH (1995) Activation-induced death of mature T cells in the regulation of immune responses. *Curr Opin Immunol* 7:382-388
- Russell SM, Tayebi N, Nakajima H, Riedy MC, Roberts JL, Aman MJ, Migone TS, Noguchi M, Markert ML, Buckley RH (1995) Mutation of Jak3 in a patient with SCID: essential role of Jak3 in lymphoid development. *Science* 270:797-800
- Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vana-gaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, Ashkenazi M, Pecker I, Frydman M, Harnik R, Patanjali SR, Simmons A, Clines GA, Sartiel A, Gatti RA, Chessa L, Sanal O, Lavin MF, Jaspers NGJ, Taylor AMR, Arlett CF, Miki T, Weissman SM, Lovett M, Collins FS, Shiloh Y (1995a) A single ataxia teleangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 268:1749-1753
- Savitsky K, Sfez S, Tagle DA, Ziv Y, Sartiel A, Collins FS, Shiloh Y, Rotman G (1995b) The complete sequence of the coding region of the ATM gene reveals similarity to cell cycle regulators in different species. *Hum Mol Genet* 4:2025-2032
- Schatz DG, Oettinger MA, Baltimore D (1989) The V(D)J recombination activating gene, RAG-1. *Cell* 59:1035-1048
- Schuhmacher TN, Kantsaria DV, Heemels MT, Ashton Rickard PG, Sheperd JC, Fruh K, Yang Y, Peterson PA, Tonegawa S, Ploegh HL (1994) Peptide length and sequence specificity of the mouse TAP 1/TAP 2 translocator. *J Exp Med* 179:533-540
- Schwartz AL, Polmar SH, Stern RC, Cowan DH (1978) Abnormal platelet aggregation in severe combined immunodeficiency disease with adenosine deaminase deficiency. *Br J Haematol* 39:189
- Schwarz K, Bartram CR (1996) V(D)J recombination pathology. *Adv Immunol* 61:285-326
- Schwarz K, Hameister H, Gessler M, Grzeschik K-H, Hansen-Hagge TE, Bartram CR (1994) Confirmation of the localization of the human recombination activating gene 1 (RAG 1) to chromosome 11p13. *Hum Genet* 93:215-217
- Schwarz K, Gauss GH, Ludwig L, Pannicke U, Li Z, Lindner D, Friedrich W, Seger RA, Hansen-Hagge TE, Desiderio S, Lieber MR, Bartram CR (1996a) RAG mutations in human B cell-negative SCID. *Science* 274:97-99
- Schwarz K, Nonoyama S, Peitsch MC, Saint Basile G de, Espanol T, Fasth A, Fischer A, Freitag K, Friedrich W, Fugmann S, Hossle HP, Jones A, Kinnon C, Meindl A, Notarangelo LD, Wechsler A, Weiss M, Ochs HD (1996b) WASPbase: a database of WAS- and XLT-causing mutations. *Immunol Today* 17:496-502
- Sedwick RP, Boder E (1991) Ataxia-teleangiectasia. In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL (eds) *Handbook of clinical neurology*. Elsevier, Amsterdam New York, pp 347-423
- Shafman T, Khanna KK, Kedar P, Spring K, Kozlov S, Yen T, Hobson K, Gatei M, Zhang N, Watters D, Egerton M, Shiloh Y, Kharbanda S, Kufe D, Lavin MF (1997) Interaction between ATM protein and c-Abl in response to DNA damage. *Nature* 387:520-523
- Shiloh Y (1995) Ataxia-teleangiectasia: closer to unraveling the mystery. *Eur J Hum Genet* 3:116-138
- Siminovich KA, Greer WL, Novogrodsky A, Axelsson B, Soman AK, Peacocke M (1995) A diagnostic assay for the Wiskott-Aldrich syndrome and its variant forms. *J Invest Med* 43:159-169
- Simon HU, Mills GB, Hashimoto S, Siminovich KA (1992) Evidence for defective transmembrane signaling in B cells from patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *J Clin Invest* 90:1396-1405

- Sneller MC, Straus SE, Jaffe ES, Jaffe JS, Fleisher TA, Stettler-Stevenson M, Strober W (1992) A novel lymphoproliferative/autoimmune syndrome resembling murine *lpr/gld* disease. *J Clin Invest* 90:334–341
- Sneller MC, Wang J, Dale JK, Strober W, Middleton CA, Choi Y, Fleisher TA, Lim MS, Jaffe ES, Puck JM, Lenardo MJ, Straus SE (1997) Clinical, immunologic, and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis. *Blood* 89:1341–1348
- Soudais C, De Villarta J-P, Le Deist F, Fischer A, Lisowska-Groszpiere (1993) Independent mutations of the human CD3- ϵ gene resulting in a T cell receptor/CD3 complex immunodeficiency. *Nat Genet* 3:77–81
- Spanopoulou E, Zaitseva F, Wang F-H, Santagata S, Baltimore D, Panayotou G (1996) The homeodomain region of RAG-1 reveals the parallel mechanisms of bacterial and V(D)J recombination. *Cell* 87:263–276
- Standen GR (1991) Wiskott-Aldrich syndrome: a multidisciplinary disease. *J Clin Pathol* 44:979–982
- Steimle V, Otten LA, Zufferey M, Mach B (1993) Complement cloning of an MHC II class II transactivator mutated in hereditary MHC class II deficiency (or bare lymphocyte syndrome). *Cell* 75:135–146
- Steimle V, Siegrist C, Mottet A, Lisowska-Groszpiere B, Mach B (1994) Regulation of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene C II TA. *Science* 265:106–109
- Steimle V, Durand B, Barras E, Zufferey M, Hadam MR, Mach B, Reith W (1995) A novel DNA binding regulatory factor is mutated in primary MHC class II deficiency (bare lymphocyte syndrome). *Genes Dev* 9:1021–1032
- Steimle V, Reith W, Mach B (1996) Major histocompatibility complex class II deficiency: a disease of gene regulation. *Adv Immunol* 61:327–340
- Stephan JL, Vlekova V, Le Deist F, Blanche S, Donadieu J, De Saint Basile G, Durandy A, Griscelli C, Fischer A (1993) Severe combined immunodeficiency: a retrospective single-center study of clinical presentation and outcome in 117 cases. *J Pediatr* 123:5047–5072
- Stewart DM, Treiber-Held S, Kurman CC, Facchetti F, Notarangelo LD, Nelson DL (1996) Studies of the expression of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *J Clin Invest* 97:2627–2634
- Strasser A (1995) Life and death during lymphocyte development and function: evidence for two distinct killing mechanisms. *Curr Opin Immunol* 7:228–234
- Sugamura K, Asao H, Kondo M, Tanaka N, Ishii N, Ohbo K, Nakamura M, Takeshita T (1996) The interleukin-2 receptor γ chain: its role in the multiple cytokine receptor complexes and T cell development in XSCID. *Annu Rev Immunol* 14:179–205
- Swift M, Morell D, Comartie E, Chamberlin AR, Skolnick MH, Bishop DT (1986) The incidence and gene frequency of ataxia-telegenictasia in the United States. *Am J Hum Genet* 39:573–585
- Swift M, Reitnauer PJ, Morell D, Chase CL (1989) Breast and other cancers in families with ataxia-telegenictasia. *N Engl J Med* 316:1289–1294
- Swift M, Morell D, Massey RB, Chase CL (1991) Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia telegenictasia. *N Engl J Med* 325:1831–1836
- Symons M, Derry JM, Karlak B, Jiangs S, Lemahieu V, McCormick F, Francke U, Abo A (1996) Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase Cdc42Hs, is implicated in actin polymerization. *Cell* 84:723–734
- Takeshita T, Asao H, Ohtani K, Ischii N, Kumaki S, Tanaka N, Munakata H, Nakamura M, Sugamura K (1992) Cloning of the gamma chain of the human IL-2-receptor. *Science* 257:379–382
- Taniguchi T (1995) Cytokine signalling through nonreceptor protein tyrosine kinases. *Science* 268:251–255
- Taylor AMR, Harnden DG, Arlett CE, Harcourt SA, Lehmann AR, Stevens S, Bridges BA (1975) Ataxia teleangenictasia: a mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature* 258:427–424
- Taylor AMR, Byrd PJ, McConville CM, Thacker S (1994) Genetics and cellular feature of ataxia teleangenictasia. *Int J Radiat Biol* 68:65–70
- Taylor N, Bacon KB, Smith S, Jahn T, Kadlecsek TA, Uribe L, Kohn DB, Gelfand EW, Weiss A, Weinberg K (1996a) Reconstitution of T cell receptor signalling in ZAP-70-deficient cells by retroviral transduction of the ZAP-70 gene. *J Exp Med* 184:2031–2036
- Taylor N, Uribe L, Smith S, Jahn T, Kohn DB, Weinberg K (1996b) Correction of interleukin-2 receptor function in X-SCID lymphoblastoid cells by retrovirally mediated transfer of the γc gene. *Blood* 87:3103–3107
- Thomas C, Saint Basile G de, Le Deist F, Theophile D, Benkerrou M, Haddad E, Blanche S, Fischer A (1995) Brief report: correction of X-linked hyper-IgM syndrome by allogenic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 333:426–429
- Timon M, Arnaiz-Villena A, Rodriguez-Gallego C, Perez-Aciego P, Paccheo A, Regueiro JR (1993) Selective disbalances of peripheral blood T lymphocyte subsets in human CD3 γ deficiency. *Eur J Immunol* 23:1440–1444
- Trowsdale J (1993) Genomic structure and function in the MHC. *Trends Genet* 9:117–122
- Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, Parolini O, Allen RC, Klisak I, Sparkes RS, Kubagawa H, Mohandas T, Quan S, Belmont JW, Cooper MD, Conley ME, Witte ON (1993) Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 72:279–290
- Tunnacliffe A, Olsson C, Buluwela L, Rabbits TH (1988) Organization of the human CD3 locus on chromosome 11. *Eur J Immunol* 18:1639–1642
- Ullmann B, Gudas LJ, Clift SM, Martin DW Jr (1979) Isolation and Characterisation of purine-nucleoside phosphorylase-deficient T-lymphoma cells and secondary mutants with altered ribonucleotide reductase: genetic model for immunodeficiency disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1074–1078
- Uziel T, Savitsky K, Platzer M, Ziv Y, Helbitz T, Nehls M, Boehm T, Rosenthal A, Shiloh Y, Rotman G (1996) Genomic organization of the ATM gene. *Genomics* 33:317–320
- Van der Meer JWM, Weening RS, Schellekens PTA, Munster IP van, Nagengast FM (1993) Colorectal cancer in patients with X-linked agammaglobulinemia. *Lancet* 341:1439–1440
- Van Gent DC, McBlane JF, Ramsden DA, Sadofsky MJ, Hesse JE, Gellert M (1995) Initiation of V(D)J recombination in a cell-free system. *Cell* 81:925–934
- Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, Holland J, Davies A, Flinter F, Hammarstrom L, Kinnon C, Levinsky R, Bobrow M, Smith CIE, Bentley DR (1993) The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosin kinases. *Nature* 361:226–233

- Vihinen M, Iwata T, Kinnon C, Kwan SP, Ochs HD, Vorachovsky I, Smith CIE (1996) BTKbase, mutation database for X-linked agammaglobulinemia (XLA). *Nucleic Acids Res* 24:160–165
- Weaver DT (1995) What to do at an end-DNA double-strand-break repair. *Trends Genet* 11:388–392
- Weinberg K, Parkman R (1990) Severe combined immunodeficiency due to a specific defect in the production of interleukin-2. *N Engl J Med* 322:1718–1723
- Wengler G, Gorlin JB, Williamson JM, Rosen FS, Bing DH (1995) Nonrandom inactivation of the X chromosome in early lineage hematopoietic cells in carriers of Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood* 85:2471–2477
- Williams SR, Goddard JM, Martin DW Jr (1984) Human purine nucleoside phosphorylase cDNA sequence and genomic clonic characterization. *Nucleic Acids Res* 12:5779–5787
- Williams SR, Gerkeler V, McIvor RS, Martin DW Jr (1987) A human purine nucleoside phosphorylase deficiency caused by a single base change. *J Biol Chem* 262:2332–2338
- Wilson DK, Rudolph FB, Quijcho FA (1991) Atomic structure of adenosine deaminase complexed with a transition state analog: understanding catalysis and immunodeficiency mutations. *Science* 252:1278–1284
- Wilson DI, Burn J, Scambler P, Goodship J (1993) DiGeorge syndrome, part of CATCH22. *J Med Genet* 30:852–856
- Wiskott A (1937) Familiarer, angeborener Morbus Werlhofii? *Monatsschr Kinderheilkd* 68:212–216
- Witthuhn BA, Silvenoinen O, Miura O, Lai KS, Cwik C, Liu ET, Ihle JN (1994) Involvement of the Jak-3 Janus kinase in signalling by interleukins 2 and 4 in lymphoid and myeloid cells. *Nature* 370:153–157
- Yang Y, Wilson JM (1996) CD40 ligand-dependent T cell activation: requirement of B7-CD28 signaling through CD40. *Science* 273:1862–1864
- Yel L, Minegishi Y, Coustau-Smith E, Buckley RH, Trübel H, Pachmann LM, Kitchingman GR, Campana D, Rohrer J, Conley ME (1996) Mutations in the mu heavy-chain gene in patients with agammaglobulinemia. *N Engl J Med* 335:1486–1493
- Zakian VA (1995) ATM-related genes: what do they tell us about functions of the human gene? *Cell* 82:685–687
- Zonk H, Glimcher LH (1995) Human MHC class II gene transcription directed by the carboxyl terminus of C II TA, one of the defective genes in type II MHC combined immunodeficiency. *Immunity* 2:545–553

Immunsystem und Infektiologie

Ganten, D.; Ruckpaul, K. (Hrsg.)

1999, XXV, 428 S. 279 Abb., 209 Abb. in Farbe.,

Hardcover

ISBN: 978-3-540-62464-6