

CVID - next generation

Unschärfe ist manchmal auch eine Frage der Sehhilfe

Ärztefortbildung München 2015

Klaus Warnatz

Die Herausforderung „Selten und Variable“



Die Herausforderung „Selten und Variable, aber Anders“



Fallbericht

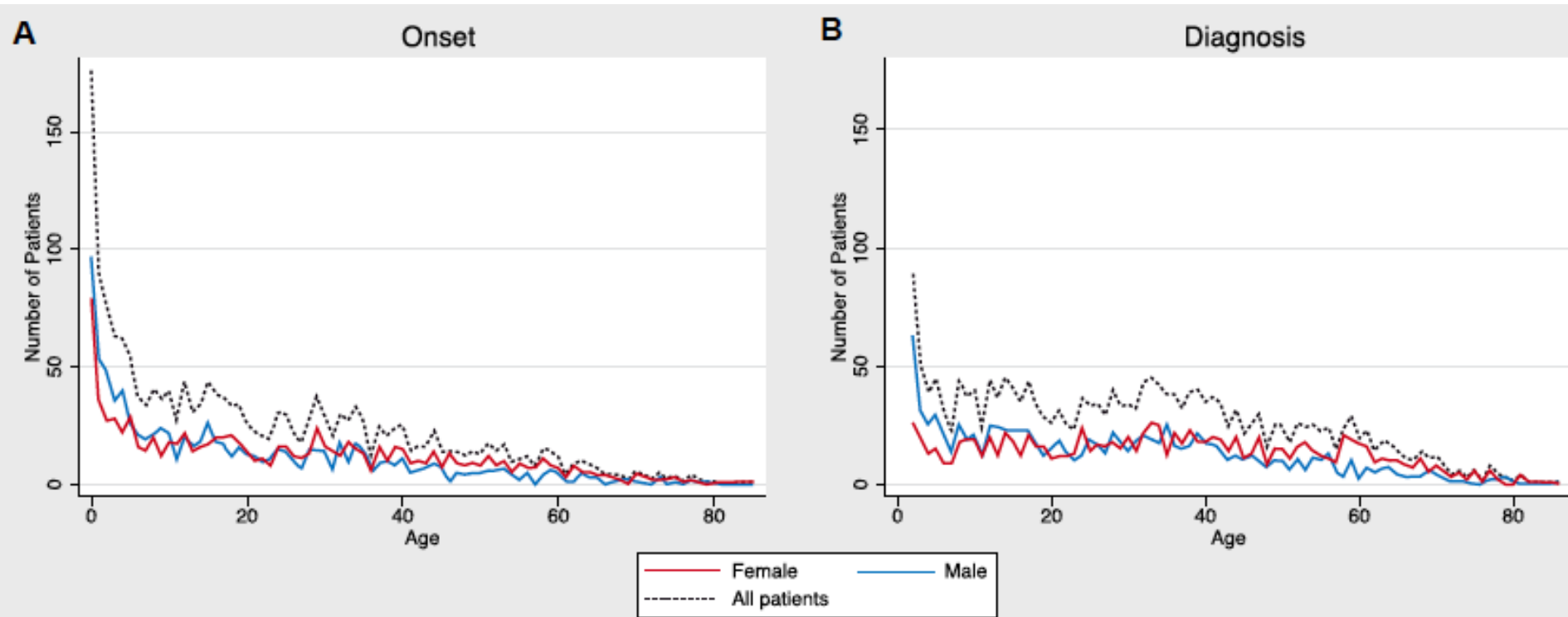
Erwachsener Patient Jg 1989

ausgeblendet

Variabler Immundefekt (CVID)

- **Definition: Heterogenes primäres Antikörpermangelsyndrom**
 - Serum Ig-Spiegel:
 - IgA < NW g/l**
 - IgG < 5g/l**
 - IgM in >50% erniedrigt**
 - **Diagnose der Immundefizienz nach dem 4.Lj.**
 - **Ausschluss anderer Ursachen eines Antikörpermangels**
 - **Fehlender Nachweis von Isohämagglutininen oder schlechte Impfantwort (möglichst vor Substitution!!)**
 - **Rezidivierende respiratorische und/oder gastrointestinale bakterielle Infekte**
 - **Prävalenz: ca. 1:25.-50.000**

Variabler Immundefekt (CVID)



Verzögerte Diagnose: ca 4 J (!) Europaweit
Mit nur geringer Änderung zwischen 1990-2000 und 2000-2010

Variabler Immundefekt (CVID)

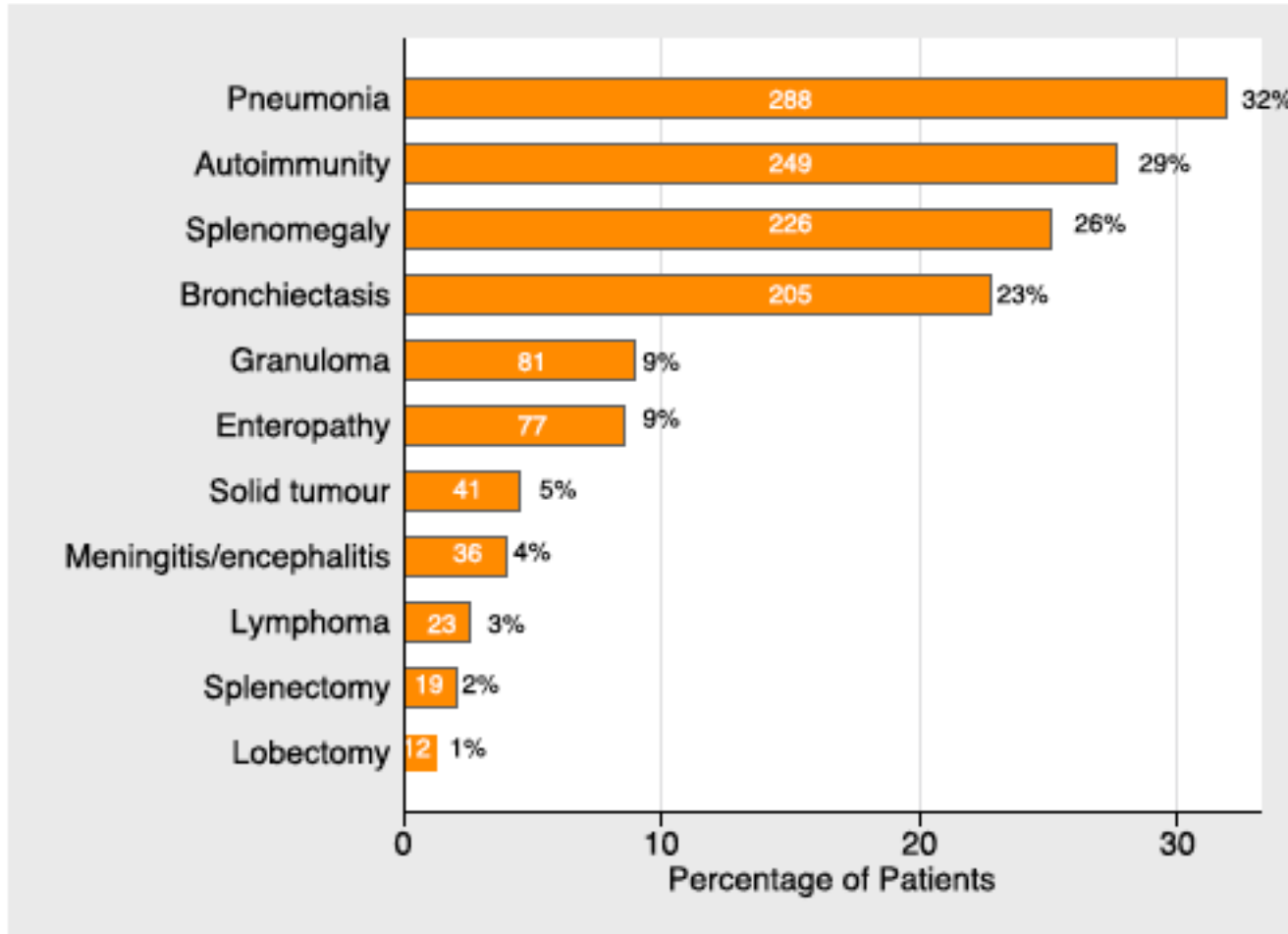
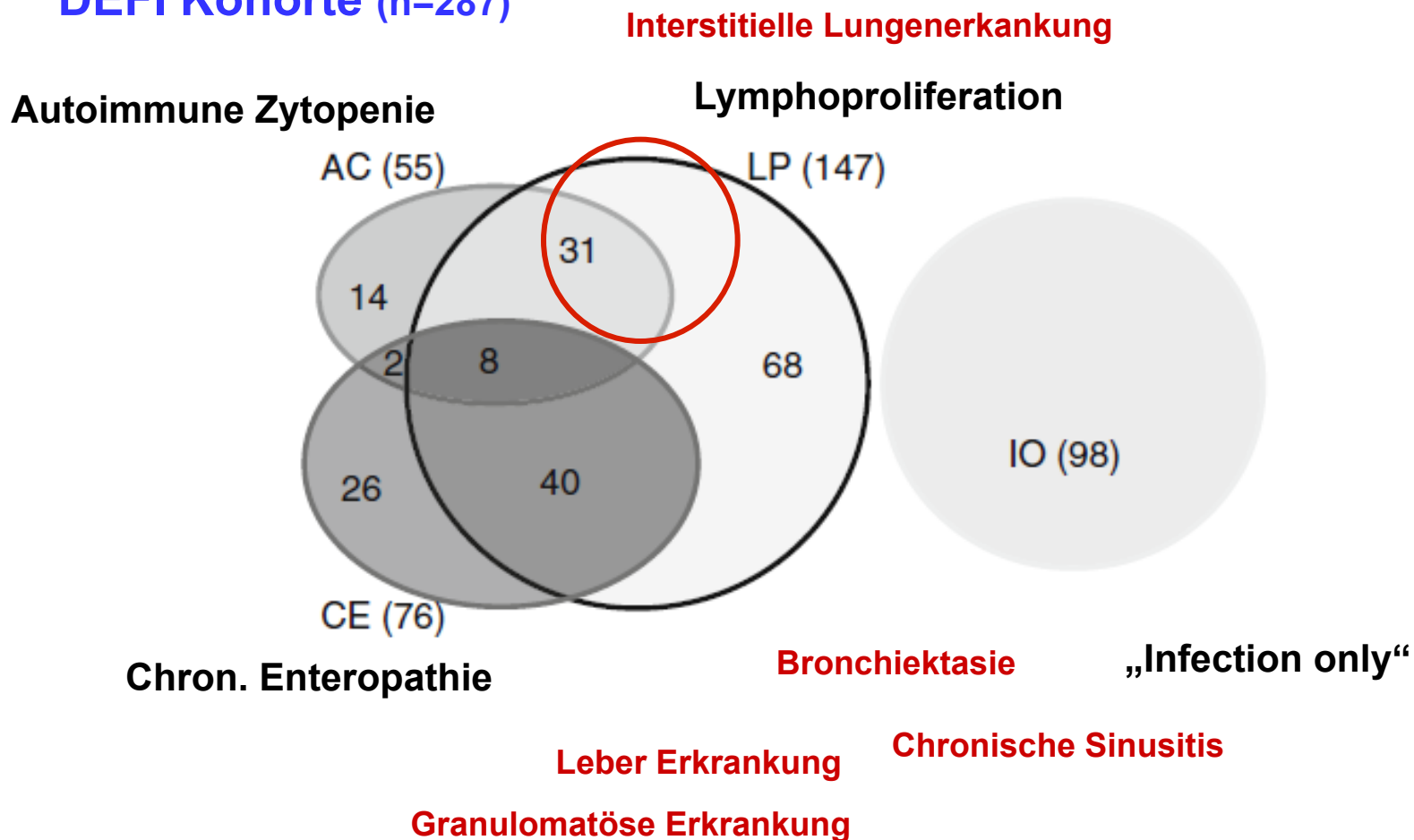


FIG 2. Frequency of clinical features in our cohort (n = 902). *Numbers in bars* represent the absolute number of patients per feature.

Klinische Manifestationen bei CVID

Zu einer klinisch relevanten Einteilung

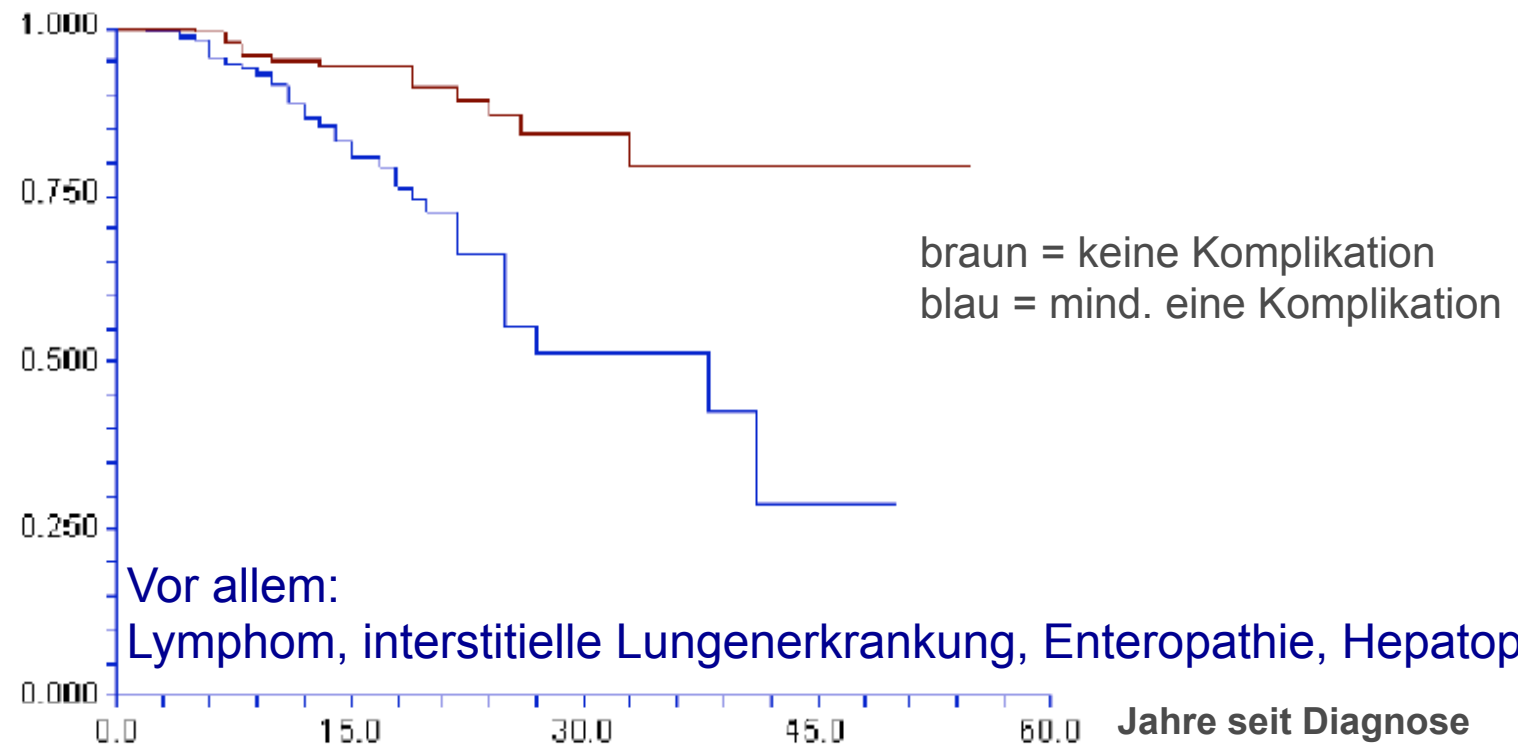
DEFI Kohorte (n=287)



Überleben abhängig von sekundären Komplikationen

Einfluss sekundärer Manifestationen

Mortalität/Jahr seit Diagnosestellung und klinischem Phänotyp



Die Manifestation bereits einer sekundären Komplikation reduziert das mittlere Überleben von CVID Patienten.

CVID Diagnose

Aktuelle diagnostische Konzepte

Diagnostische Schritte

Anamnese

Serum IgG, IgA and IgM + spez. Antikörperantwort

Kleiner Lymphozytenpanel

Ausschluss von Differenzialdiagnosen

B Zelldifferenzierung

T Zelldifferenzierung

Bzgl. Genetischer Diagnostik:

„For this reason, and because genetic studies do not impact clinical care requirements, a **genetic work-up is not recommended** in the initial diagnostic evaluation of CVID, except for the exclusion of other genetic disease (XLA, XLP, etc.) when indicated. Possible exceptions to this might include subjects with a consanguineous background and/or selected features on laboratory studies that suggest loss of selected B markers (CD19, CD20, etc.).“



Wichtige Laborparameter

Empfohlene Standarddiagnostik zur Abklärung CVID

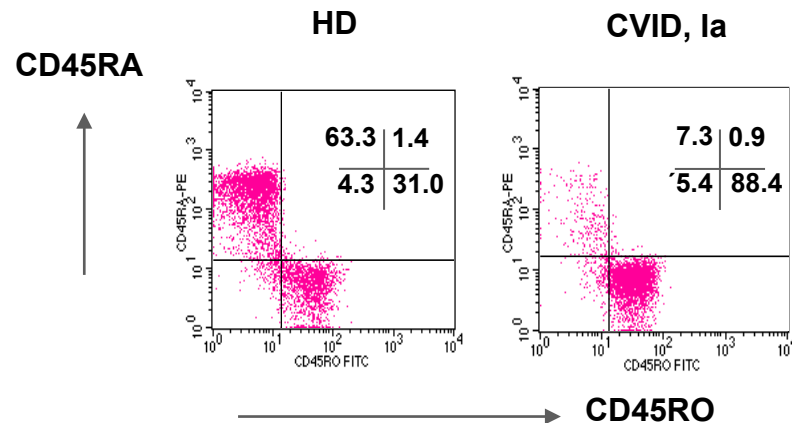
Serumimmunglobuline, spezifische (Impf)Antikörper

Ausschluss anderer Ursachen, Parameter sek. Komplikationen

Kleines Lymphozytenpanel (B, CD4, CD8, NK)

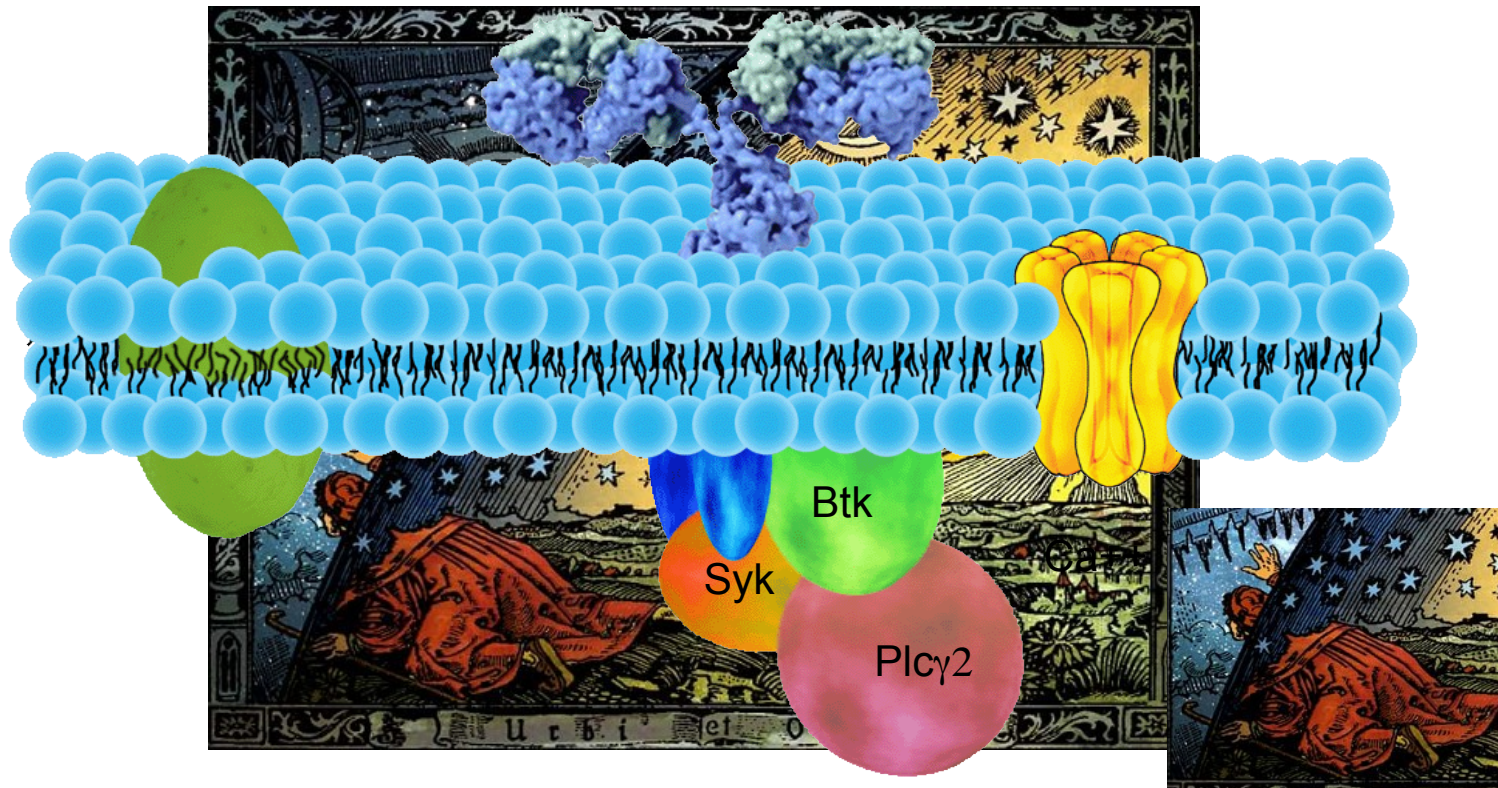
% der naiven CD4 Zellen, (Gedächtnis B Zellen, CD21low B Zellen)

CD45RA⁺ CD4 T Zellen



Der Blick unter die Oberfläche

Neue Sichtweisen: Untersuchung von Signalwegen in der Zelle

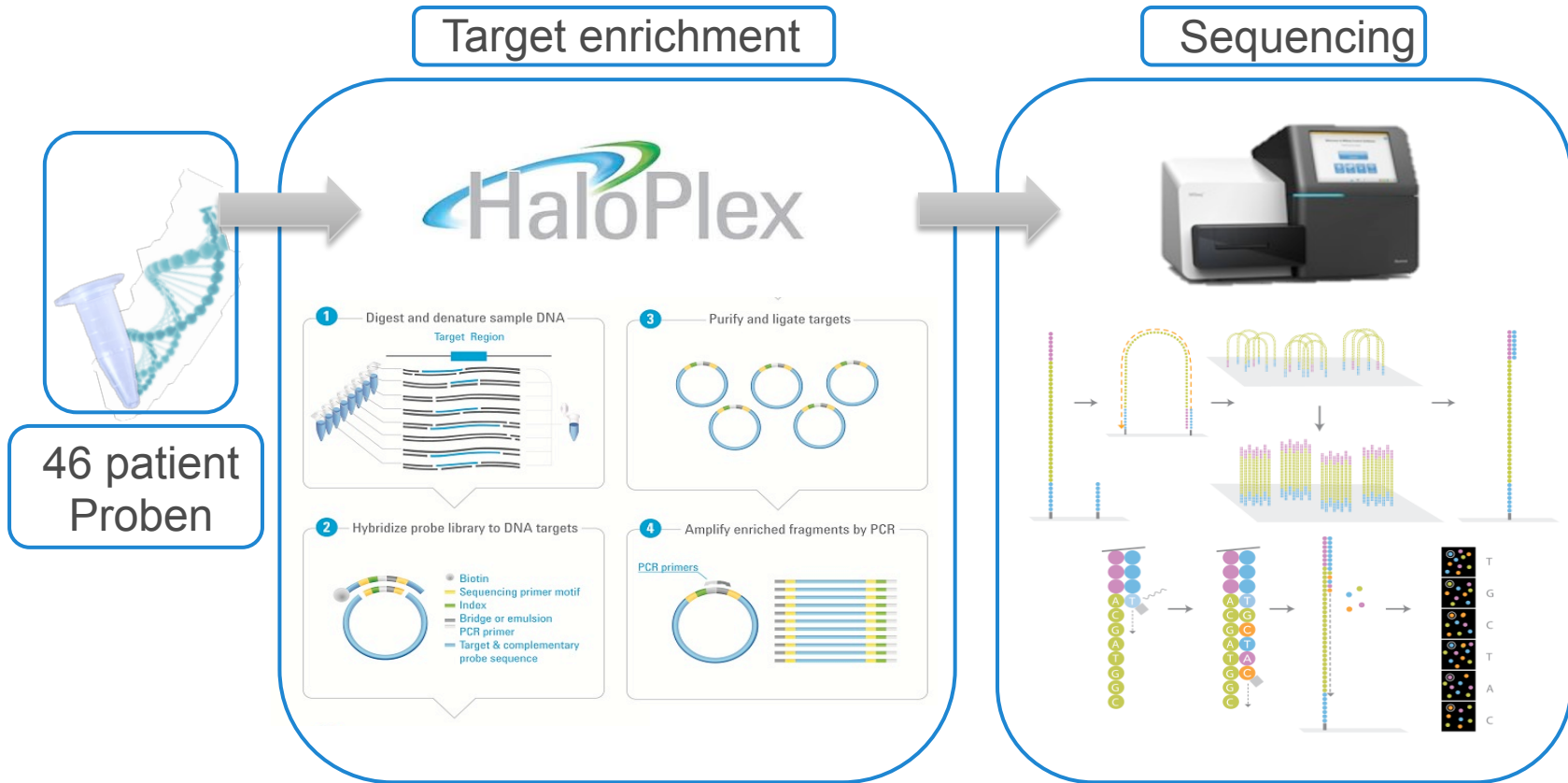


Yes, indeed, if humankind - from humble farmers in the fields and toiling workers in the cities to teachers, people of independent means, those who have reached the pinnacle of fame or fortune, even the most frivolous of society women - if they knew what profound inner pleasure await those who gaze at the heavens, then France, nay, the whole of Europe, would be covered with telescopes instead of bayonets, thereby promoting universal happiness and peace.

Camille Flammarion, L'Atmosphère: Météorologie Populaire (Paris, 1888)

Next generation Sequenzierung

Neue Sehhilfe – aktuell auf Forschungsbasis



75 KANDIDATENGENE

AKT1	CD86	IKBKG	PIK3AP1	TCF3
APCS	undisclosed8	IL21	PIK3CD	TFRC
BCL6	CLEC16A	IL21R	PIK3R1	TGFB1
BLNK	undisclosed4	undisclosed5	PRDM1	TGFB2
BTK	CR2	IRF4	PRKCD	TGFB3
CD19	CTLA4	LRBA	PRKD1	TNFRSF13B
CD27	CXCL12	undisclosed6	RAG1	TNFRSF13C
CD274	CXCR4	MLH1	RAG2	TNFRSF17
CD28	DCLRE1C	MS4A1	RELA	TNFRSF18
CD40	GATA2	NFKB1	undisclosed1	TNFRSF4
CD40LG	ICOS	NFKB2	undisclosed2	TNFSF10
CD79A	ICOSLG	NFKBIA	undisclosed3	TNFSF13
CD79B	IGHM	undisclosed7	SH2D1A	TNFSF13B
CD80	IIGLL1	PDCD1	undisclosed9	VAV1
CD81	IKBKB	PDCD1LG2	STAT1	VAV2

Ergebnisse: CVID/Agamma/Antikörpermangel

136 CVID Patienten

Ergebnis: 35 Mutationen = 25,7% Erfolgsrate

<i>CTLA-4</i>	6 patients
<i>NFkappaB1</i>	7 patients
<i>NFkappaB2</i>	2 patients
<i>BTK</i>	4 patients
<i>LRBA</i>	3 patients
<i>TACI</i>	3 patients
<i>STAT1</i>	2 patients
Undisclosed genes	8 patients

Kosten: 250 EUR

Turn-around time: approx. 1-4 Monate

Bodo.grimbacher@uniklinik-freiburg.de

Mehr als nur CVID

Neue genetische Syndrome im Zeitalter des Next Generation Sequencing (NGS)

ARTICLE Am J of Hum Gen 90, 986

2012

Deleterious Mutations in *LRBA* Are Associated with a Syndrome of Immune Deficiency and Autoimmunity

Gabriela Lopez-Herrera,^{1,2} Giacomo Tampella,^{3,19} Qiang Pan-Hammarström,^{4,19} Peer Herholz,^{5,19}

2013

blood

2013 121: 3117-3125
Prepublished online February 21, 2013;
doi:10.1182/blood-2012-12-469544

Loss-of-function of the protein kinase C δ (PKC δ) causes a B-cell lymphoproliferative syndrome in humans

Hye Sun Kuehn, Julie E. Niemela, Andreia Rangel-Santos, Mingchang Zhang, Stefania Pittaluga,

**nature
immunology**

2014

Dominant-activating germline mutations in the gene encoding the PI(3)K catalytic subunit p110 δ result in T cell senescence and human immunodeficiency

Carrie L Lucas^{1,15}, Hye Sun Kuehn^{2,15}, Fang Zhao^{3,4,15}, Julie E Niemela², Elissa K Deenick^{5,6},

Scienceexpress

Science Epub 9/2014

Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in *CTLA4*

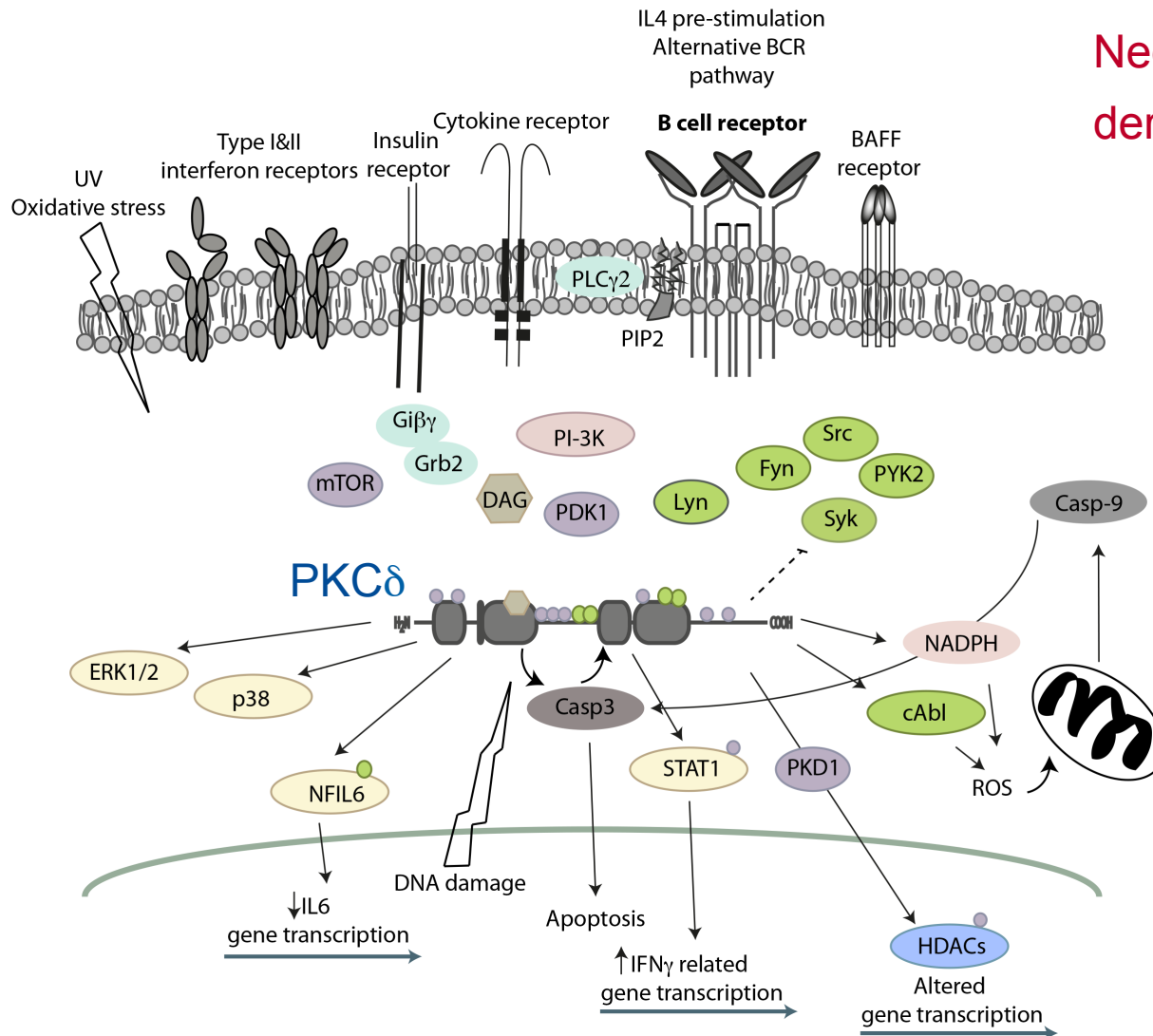
Schubert et al Nat Med 10/2014

Hye Sun Kuehn,^{1*} Weiming Ouyang,^{2*} Bernice Lo,^{3,4*} Elissa K. Deenick,^{5,6}

Rolle von PKC δ

PKC δ Mutationen

Negativer Regulator
der B Zellaktivierung



E. Salzer
K. Boztug

„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

PKC δ Mutationen

Klinische Präsentation

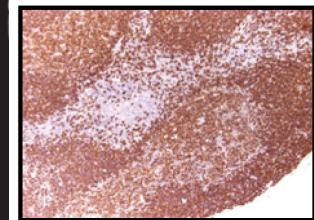
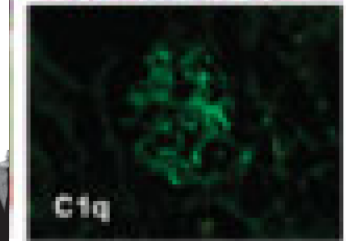
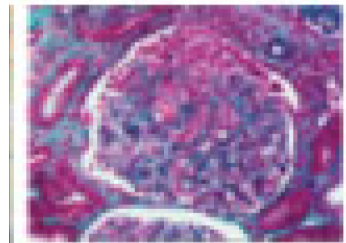
Homozygote loss of function

Salzer et al: 1 Fall (+1 Fall)

Belot et al: 3 Fälle (Geschwister)

Kuehn et al: 1 Fall

- Früher SLE oder SLE-ähnlich. **Autoimmunität**, inkl. Glomerulonephritis, Exanthem (5/5)
- **Lymphoproliferation** (Hepatosplenomegalie, Lymphadenopathie) (4/5)
- Positive **Autoantikörper** (5/5)
- (ANA, anti-dsDNA Antikörper)
- Rezid. Infektionen (2/5)

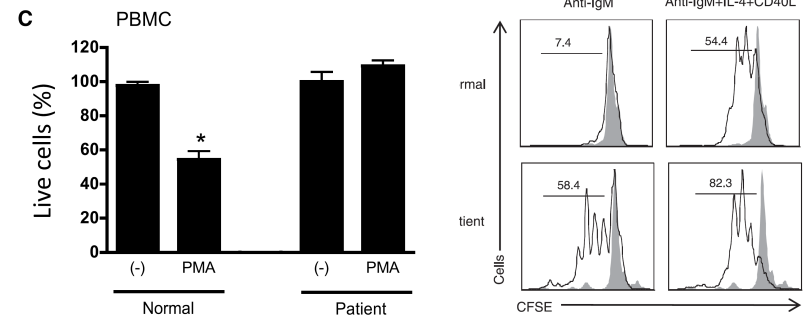
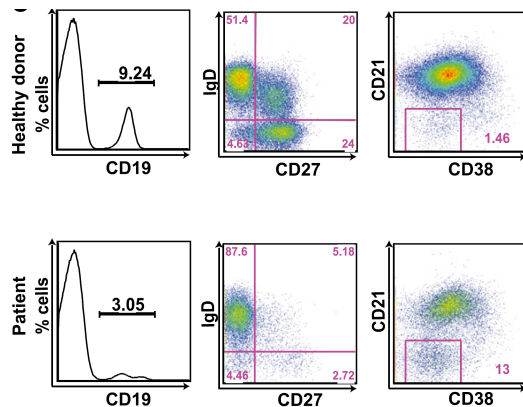


„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

PKC δ Mutationen

Immunolog. Präsentation

Zirkulierende B Zellzahlen variabel
 Gedächtnis B Zellen reduziert (3/3)
 Transitionale B Zellen erhöht (4/4)
 Erhöhte CD21^{low} B Zellen (3/3)



B Zell Hyperproliferation,
 Defekte Apoptose

T Zellzahlen und Function normal
 NK Zellen mögl. gestört (1)

B-Zell Infiltration in periphere Lymphorgane (2/5)
 Variable IgG, erhöhte IgM Spiegel (2/5)

Role of LRBA

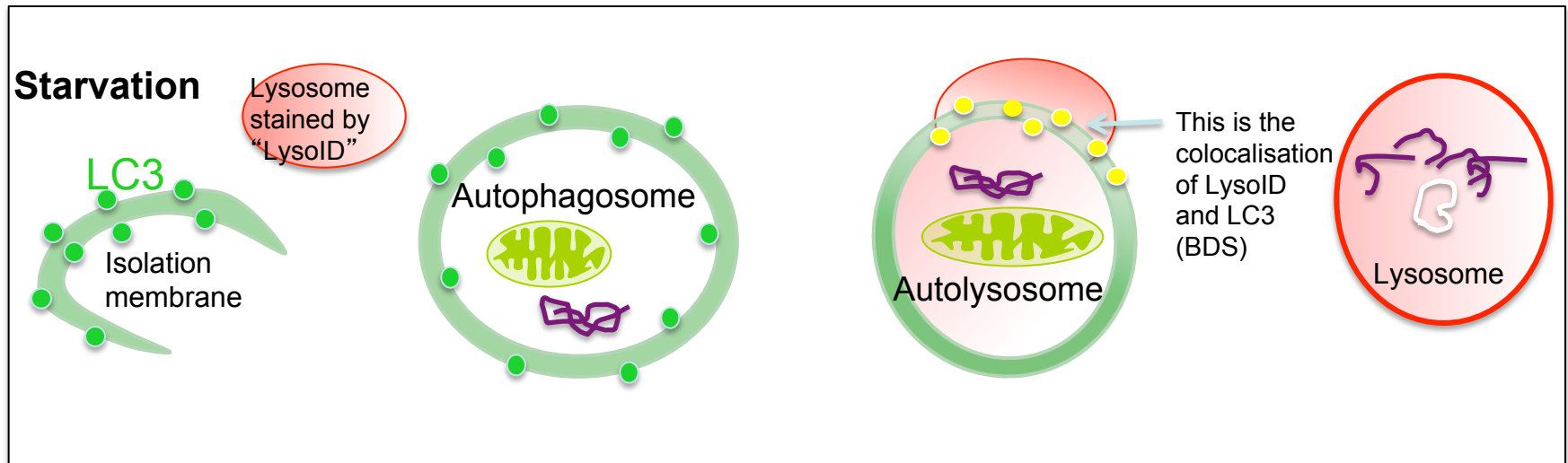
LRBA Mutationen

Lipopolysaccharide responsive beige-like anchor protein (LRBA) ist im **vesicular trafficking** und Sortierung von Organellen involviert.

Breite Expression

BEACH Proteine partizipieren in der **Autophagie**

(Kaplan et al, 2008)

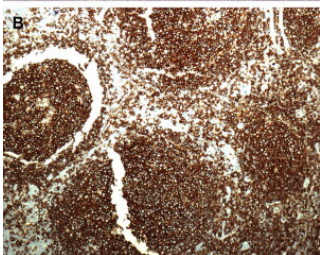
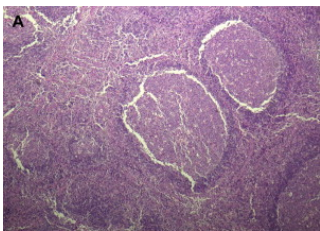
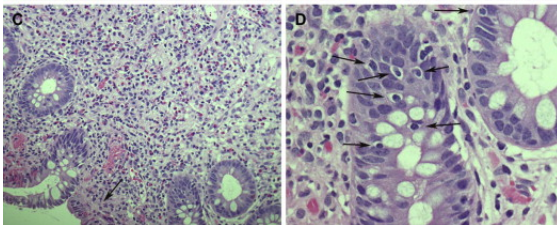
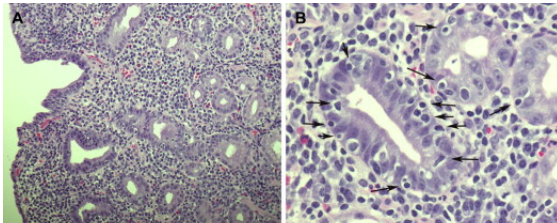


„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

LRBA Mutationen

Klinische Präsentation

Homozygote loss of function



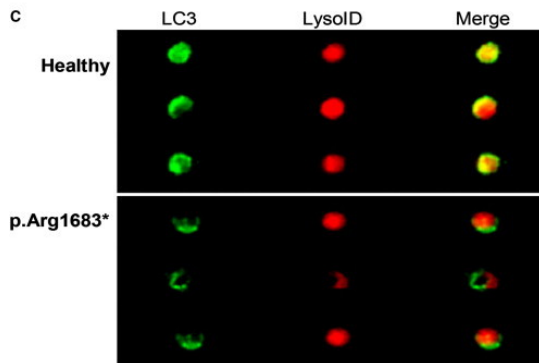
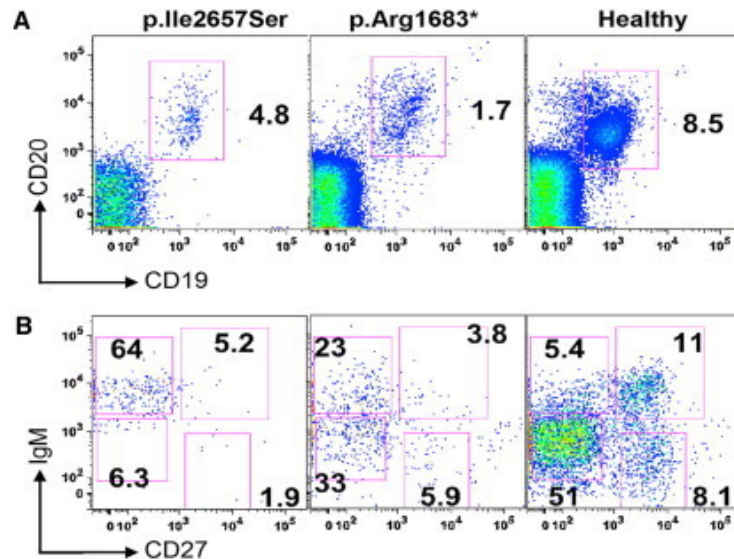
	Lopez-Herrera et al 5 Fälle 4 familien	Alangari et al 5 Fälle 1 familie	Burns et al 1 Fall 1 familie
Enteropathie	2/5	5/5	1/1
ITP	4/5	1/5	1/1
AIHA	2/5	2/5	1/1
Arthritis	1/5	1/5	1/1
Lymphadenopathie	1/5	1/5	1/1
Splenomegalie	2/5	-	1/1
Interstitielle Lungenerkrankung	2/5	-	1/1
Haut	2/5	-	1/1
Granulom formation	2/5	-	-
Hypothyroidismus	1/5	-	-
Nephrotisches Syndrom	-	1/5	-

Variable Immundefizienz, Enteropathie, Autoimmunzytopenie

„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

LRBA Mutationen

Immunologische Präsentation



Kombinierter Immundefekt

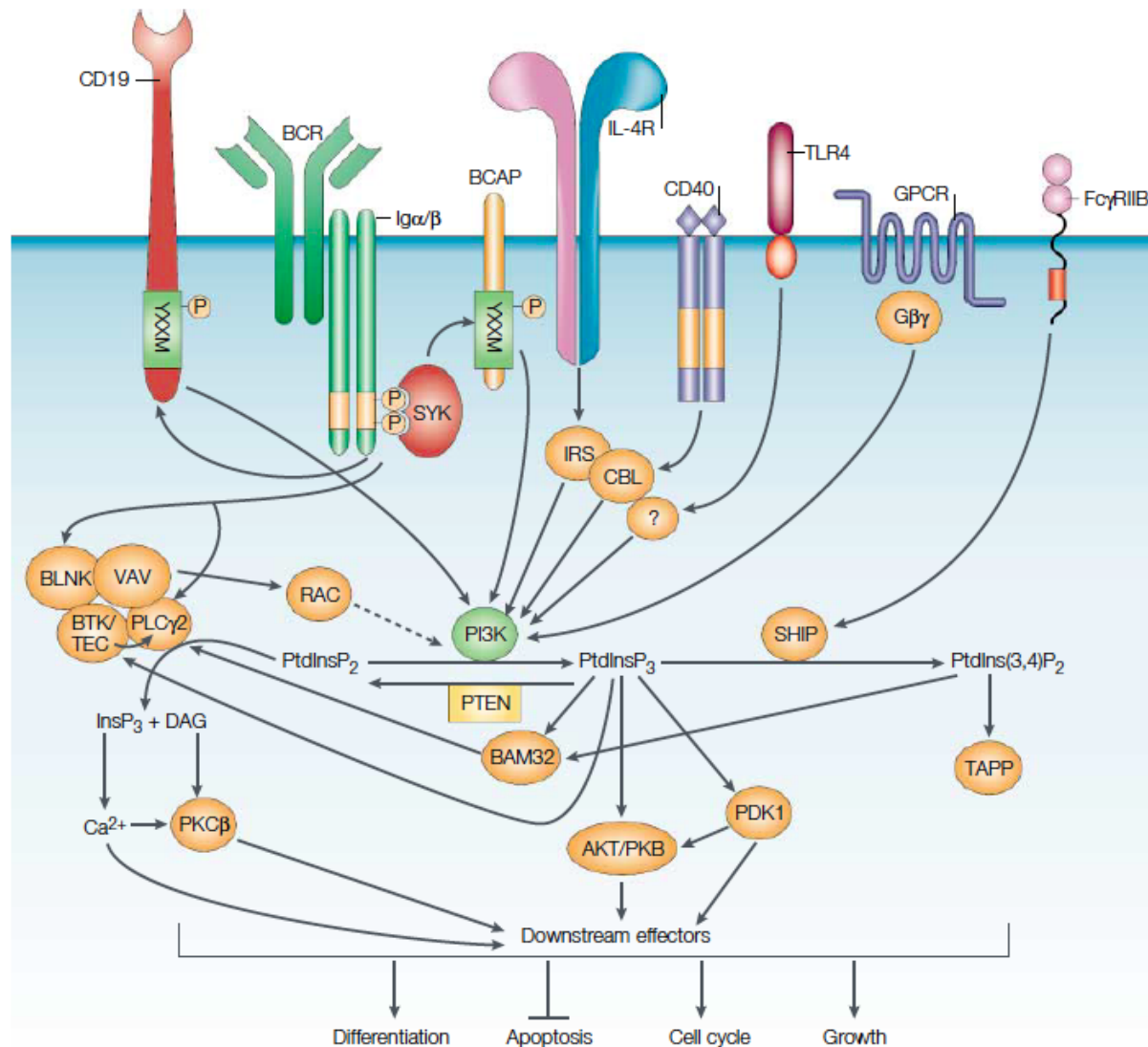
3/11 niedrige B Zellen
4/4 niedrige class-switched
Gedächtnis B Zellen

Niedrige Immunoglobulinspiegel
IgG 9/11 IgM 4/11 IgA 9/11
3/6 niedrige T Zellproliferation nach
PHA und anti-CD3 stimulation

Defekte Autophagie

Rolle of PI3k in B Zellen

PI3K δ GOF Mutationen



„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

PI3K δ GOF Mutationen

Klinische Präsentationen

Heterozygote gain of function

Rez. respiratorische Infektionen

Obstruktive Erkrankung

Autoimmunzytopenie

Splenomegalie

Lymphadenopathie

Herpes virus Infektionen

Lymphome

	Angulo et al:	Lucas et al	Crank et al
Rez. respiratorische Infektionen	(17/17)	(9/9)	(3/3)
Obstruktive Erkrankung	(12/16)	(6/8)	(1/3)
Autoimmunzytopenie	??	(3/9)	(1/3)
Splenomegalie	(10/17)	(5/8)	(2/2)
Lymphadenopathie	??	(7/8)	(3/3)
Herpes virus Infektionen	(4/17)	(9/9)	(2/3)
Lymphome	(1/17)	(2/9)	(3/3)

Lymphoproliferation!

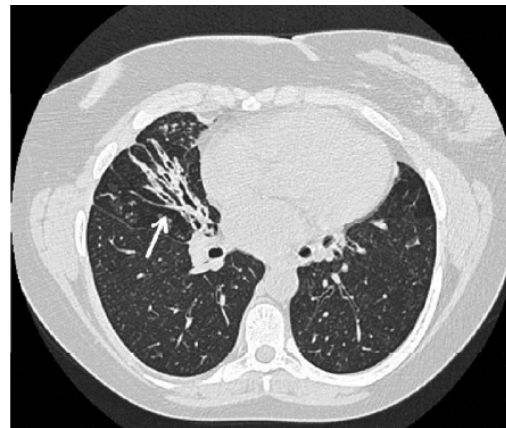
Obstruktive Lungenerkrankung

Herpes virus Infektionen?

Angulo et al, Science 2013: 17 cases in 7 families

Lucas et al, Nat Med 2013: 9 cases in 7 families

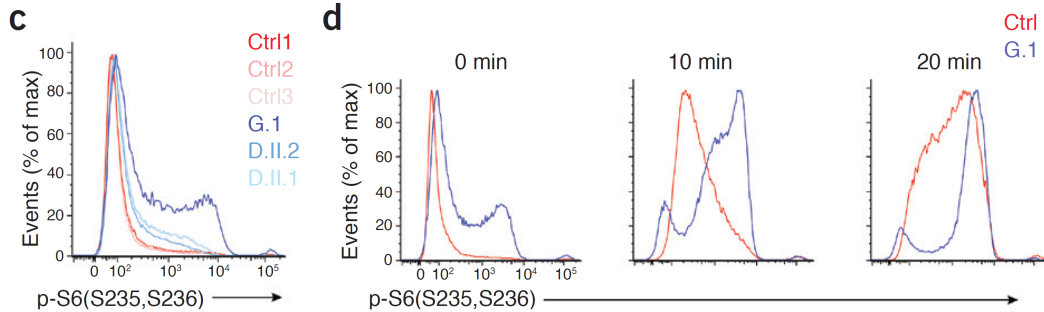
Crank et al, JoCI 2013: 3 cases in 2 families



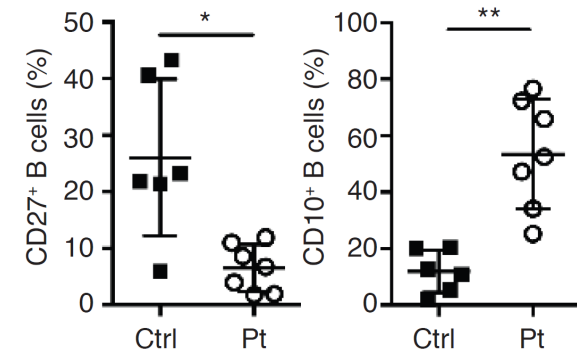
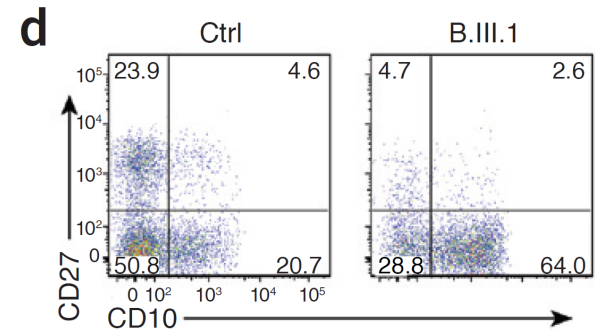
„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

PI3K δ GOF Mutationen

Immunologische Präsentation



erhöhte
mTOR Aktivität (pS6)



Immunologische Parameter	Angulo p. E1021K	Lucas p. N334K p. E525K p. E1021K	Crank p. C416R
Erhöhtes Serum IgM	14/17	3/9	3/3
Niedriges IgG2 or IgG	10/11	4/9	2/2
Niedrige CD3, CD4 und/ oder CD8 T Zellen	12/17	8/9	3/3
Niedrige B Zellen	12/17	n.d.	0/3
Erhöhte transit. B Zellen	14/16	9/9 (CD5+)	2/2
Niedrige class switched Gedächtnis B Zellen	8/16	6/9	n.d.

„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

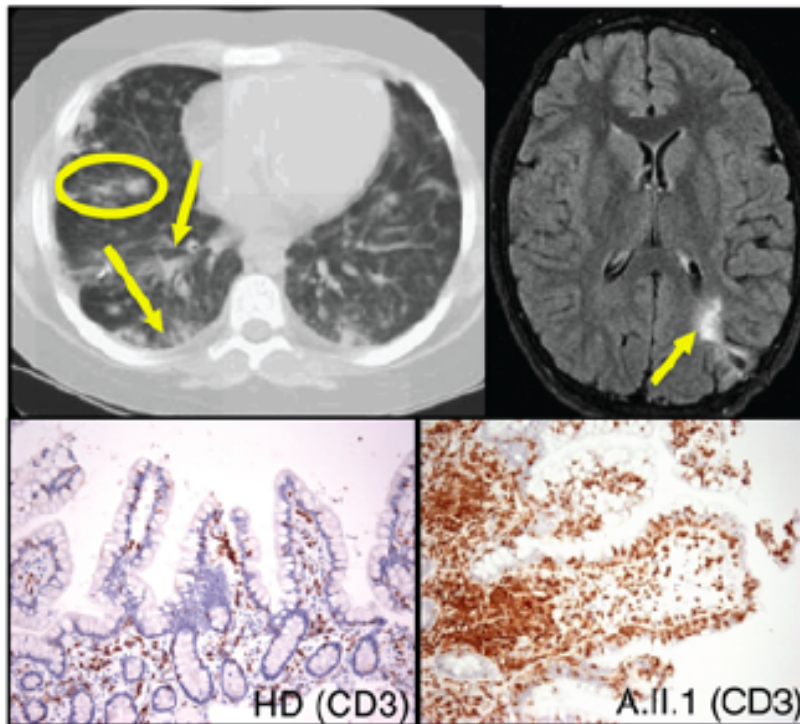
CTLA-4 Haploinsuffizienz

Klinische Präsentation

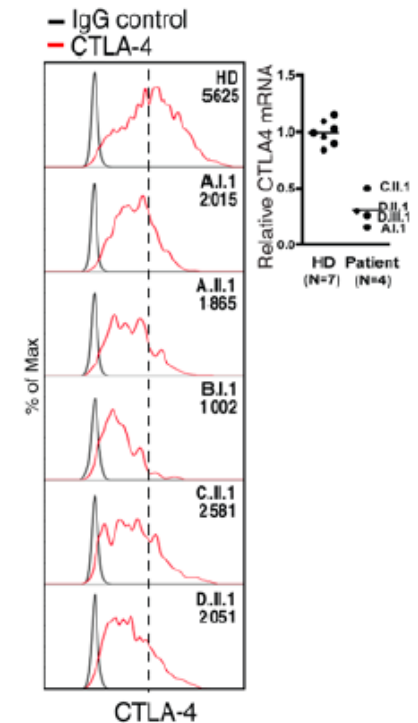
Heterozygote Haploinsuffizienz

Kuehn et al: 6 Fälle+3 Träger/4 Familien

Schubert et al: 14 Fälle+9 Träger/6 Familien



Patient	Autoimmune Features			
	Brain	Lung	Gut	Cytopenia
B.I.1				
A.I.1				
A.II.1				
C.II.1				
D.I.1				
D.II.1				
D.II.1				



Schubert et al: 11/14 Enteropathie

8/12 GLILD

6/12 Autoimmunzytopenie

6/12 Splenomegalie

4/14 Lymphadenopathie

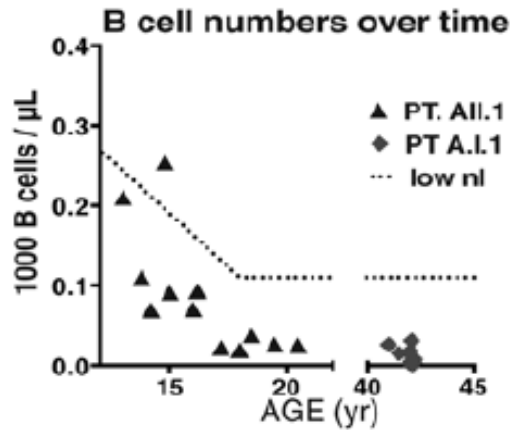
„CVID“ Erkrankungen mit Immundysregulation

CTLA-4 Haploinsuffizienz

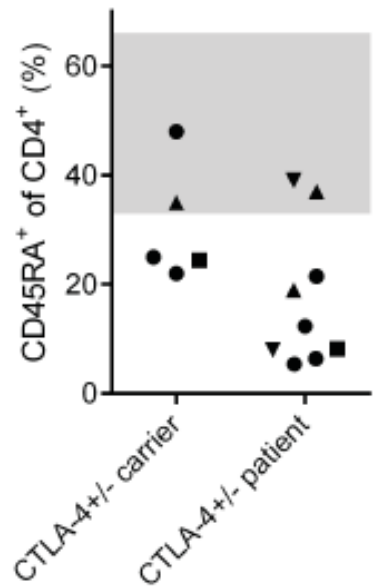
Immunologische Präsentation

Niedrige Immunoglobulinspiegel (Patienten)

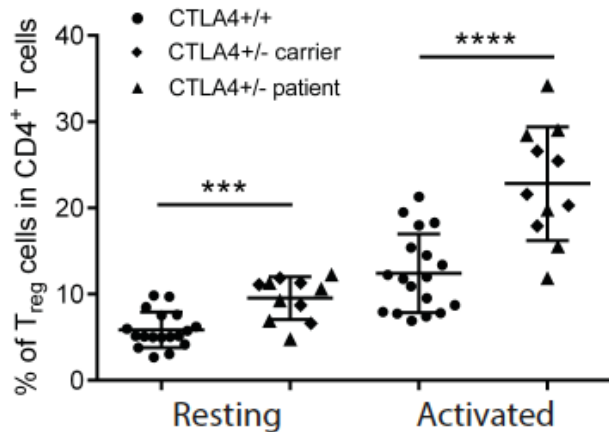
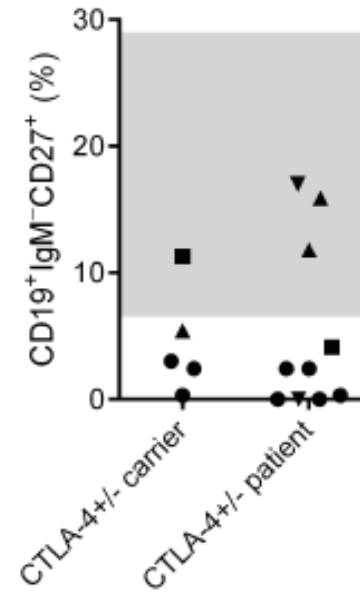
IgG 17/20 IgM 11/20 IgA 15/20



Naive CD4 T cells



Switched B cells



Akkumulation von CD21^{low} B Zellen: 9/12 Pat.
3/4 Trägern

Fallbericht

Erwachsener Patient Jg 1965

ausgeblendet

Puzzle Teile komplexer Formen des CVID

Auf der Suche nach Biomarkern

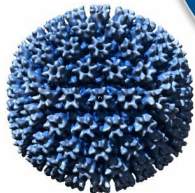
Gene und Umwelt

Immundysregulation

Klinik

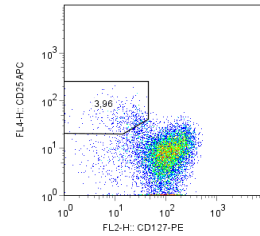
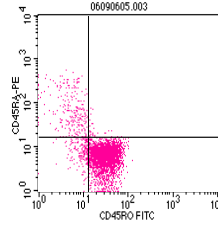
- PHKB - D16S3044
- SIAH1 - D16S409
- N4BP1 - D16S540
- CBLN - D16S517
- OAZ - D16S3080
- TRF4-2 - D16S411
- ADCY7 - GATA143D05
- BRD7 - D16S3035
- NKD1 - D16S3136
- CARD15 - D16S3117
- CYLD - D16S3396
- SALL1 - D16S770
- TNRC9 - D16S757
- RBL2 - D16S419
- FTS - D16S3034
- IRX3 - D16S415
- IRX5 - D16S771
- IRX6 - D16S492
- MMP2 - D16S3053
- CAPNS2 - D16S3110
- SLC6A2 - D16S3039
- CES1 - D16S3071
- GNAO1 - D16S3057
- AMFR - D16S3057
- SLC12A3 - D16S3094
- HERPUD1 - D16S3089
- CETP - D16S514
- NOD27 - D16S3143
- CPNE2 - D16S3129
- BART1 - D16S503
- TM4SF11
- CCL22
- CX3CL1
- POLR2C
- KATNB1 - D16S3094
- DOK4 - D16S3089
- KIFC1
- CNGB1
- TEPP - D16S514
- MMP15 - D16S3143
- GTL3 - D16S3129
- CSNK2A2 - D16S503
- NDRG4
- BCGF1
- GOT2
- CDH8

PI3K δ
CTLA4
PKC δ
LRBA



???
Not HHV8
in Europe

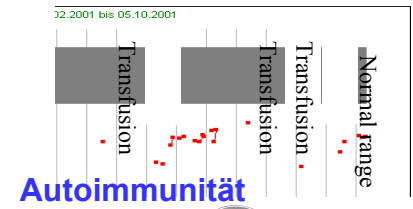
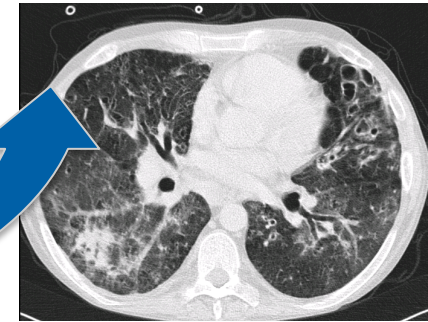
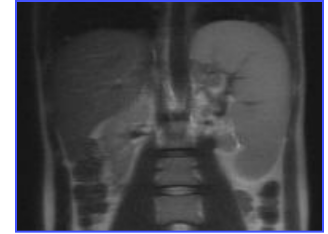
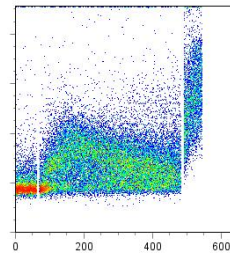
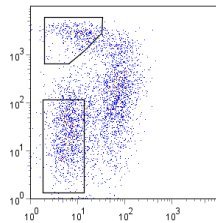
Niedrige naive CD4 T Zellen und Treg Zellen



Fortgeschrittene CD8 Seneszenz

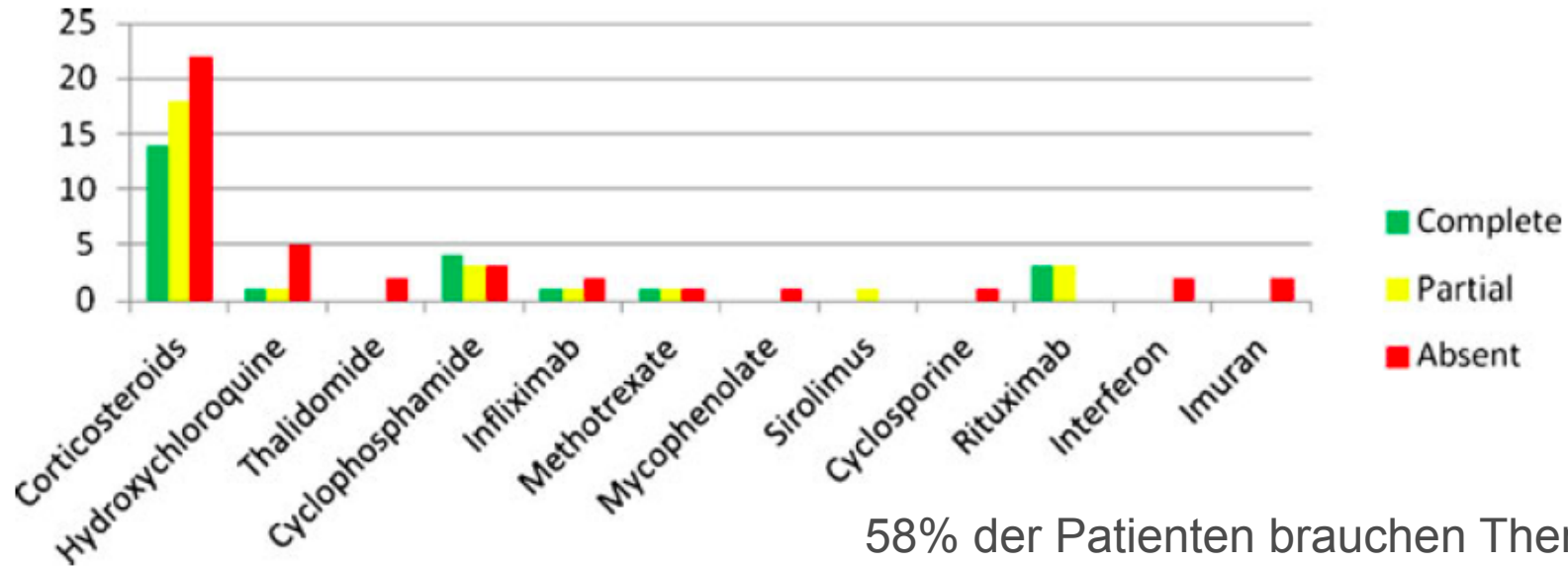
SIL2R \uparrow

Hohe CD21^{low} B Zellen BCR Signale



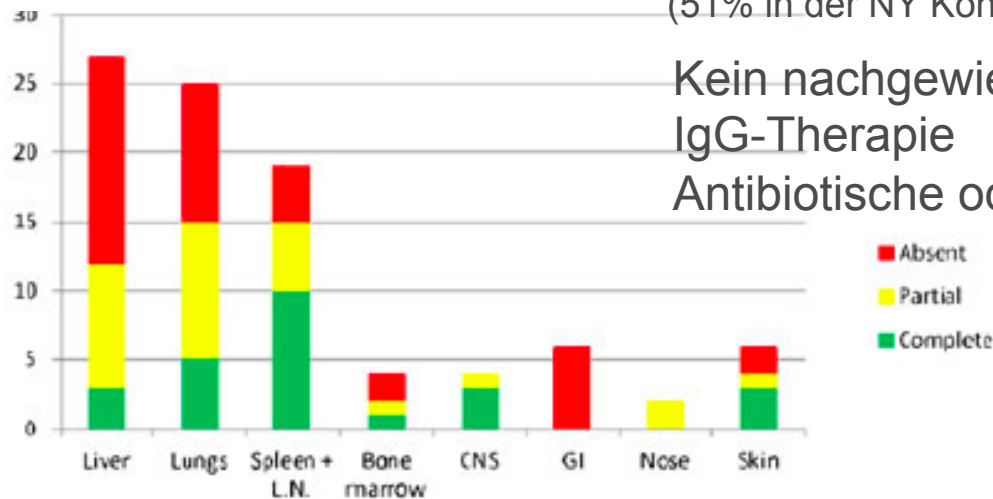
Therapie granulomatöser CVID

Try and error



58% der Patienten brauchen Therapie
(51% in der NY Kohorte)

Kein nachgewiesener Effekt auf Granulome
IgG-Therapie
Antibiotische oder antimykotische Therapie



Neue Entdeckungen

Therapeutische Implikationen

Immundysregulation ist nicht durch IgG Ersatztherapie kontrolliert.

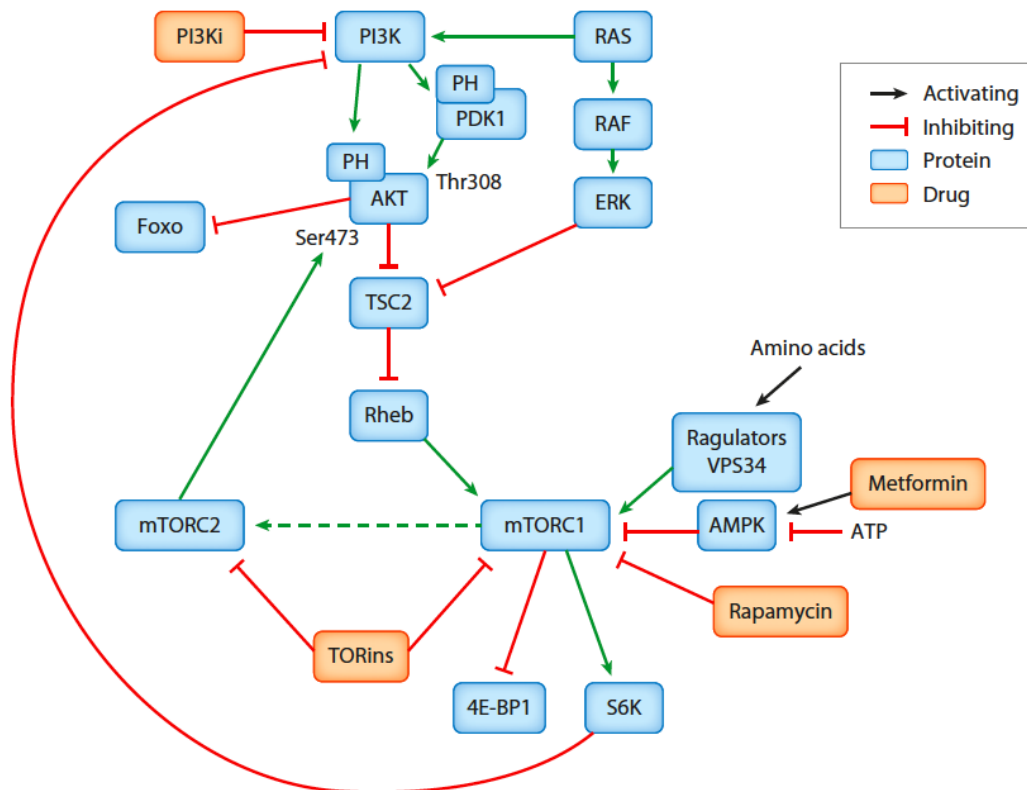
Neue Therapieansätze durch neue pathogenetische Konzepte:

mTOR Inhibition

PI3K Inhibition
(für PI3K δ GOF)

CTLA4-Ig

Rituximab



Neue Entdeckungen

Therapeutische Implikationen

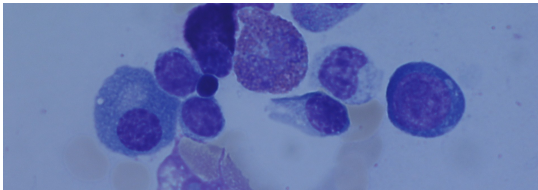
Immundysregulation ist nicht durch IgG Ersatztherapie kontrolliert.

Neue Therapieansätze durch neue pathogenetische Konzepte:

Targeted Therapien

Transplantation

Bisher nur geringe Erfahrung



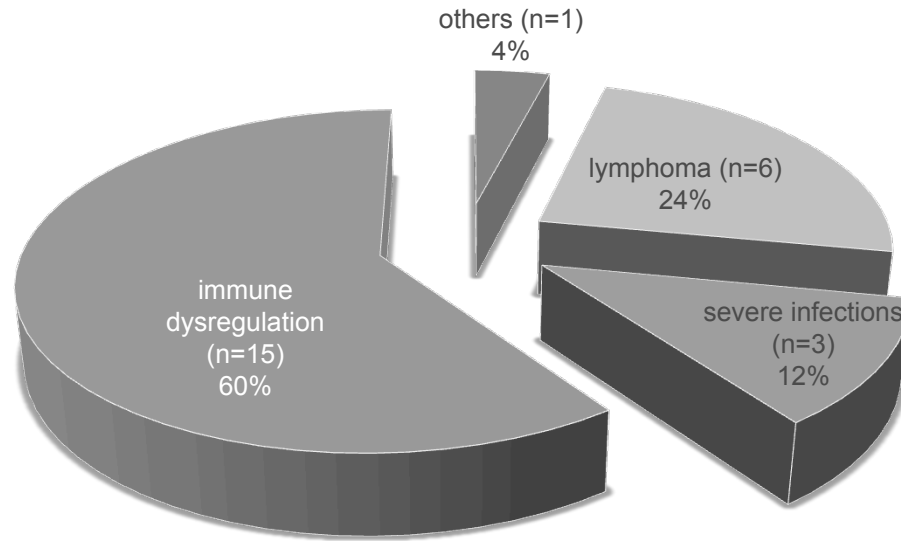
StemPAD

C.Wehr, K.Warnatz, M.Rizzi JACI 2015

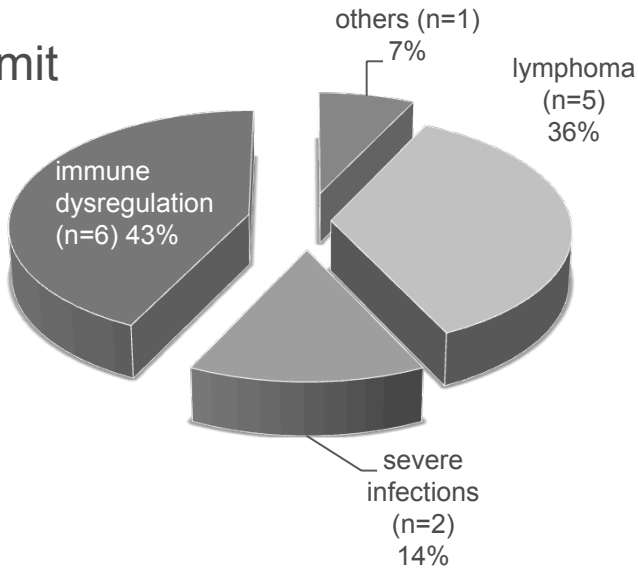
Retrospektive Studie an 25 CVID Patienten von 16 Zentren weltweit die zwischen 1993 and 2012 stammzelltransplantiert wurden.

Indikation zur HSCT

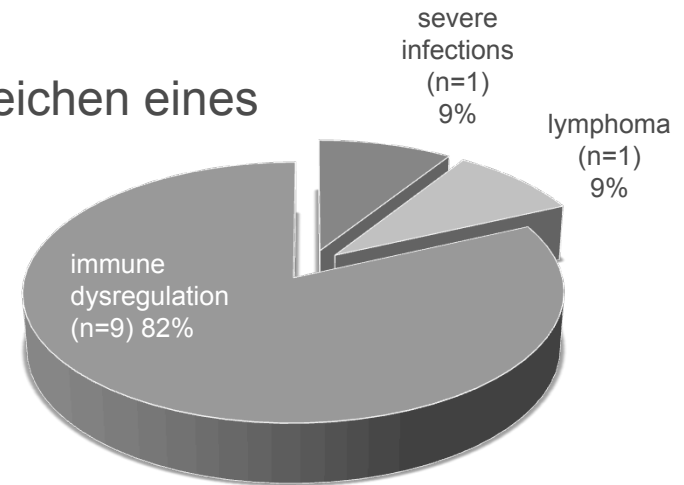
Gesamtkohorte



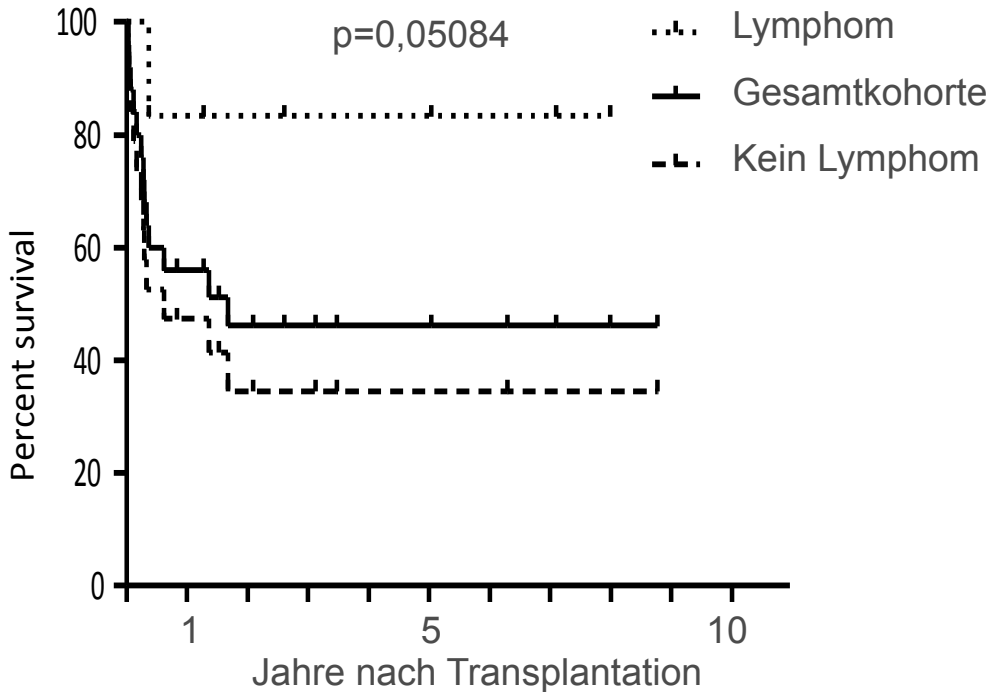
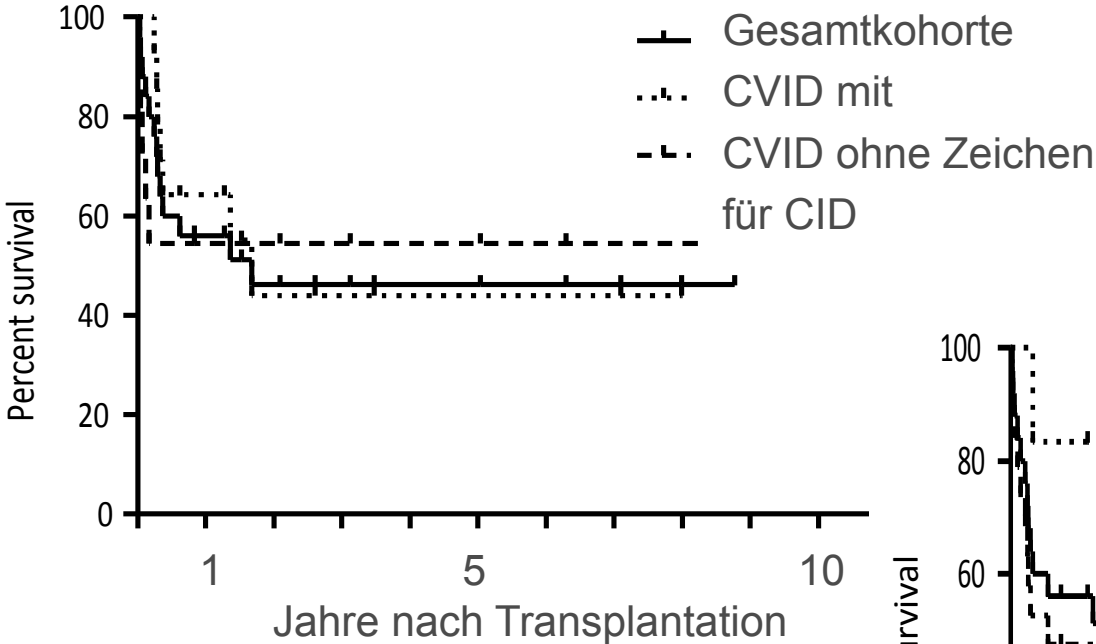
mit



Ohne Zeichen eines CID



Überleben nach Transplantation



Ergebnisse von StemPAD

- 25 CVID Patienten nach HSCT
- 13 (52%) sind gestorben
- HSCT für Lymphoma: Überleben 5/6 (83%)
- Führende Todesursache: GvHD, Tx assoz. Infektionen
- 92% erfolgreiche Therapie der sekundären Manifestation
- B Zellrekonstitution ist inkomplett bei 2/3 Patienten
- 50% der Patienten ist ohne Ig Substitution

- *Offene Fragen:*
 - Bessere Definition der Selektionskriterien inkl. **Definierter Diagnose**
 - Zeitpunkt
 - Verständnis der immunologischen Dysregulation?
 - Optimale Konditionierung, GvHD Prophylaxe?

Zusammenfassung

Die Option neuer diagnostischer Technologien und insbesondere der NGS eröffnet neue Sichtweisen und die Entdeckung neuer monogenetischer Defekte, die insbesondere im Kontext "CVID" mit Immundysregulation von hoher Bedeutung sind. (Bei unserem Patienten ausstehend...)

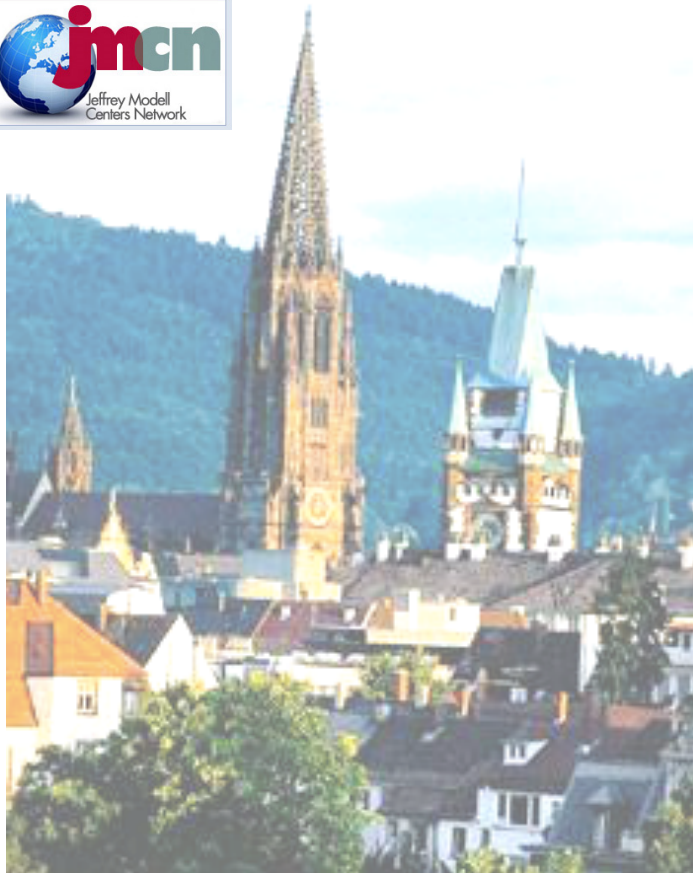
Aufgrund der schlechten Prognose komplexer CVID Patienten muss eine möglichst definitive Diagnose angestrebt werden.

Das zunehmende Verständnis der Pathogenese eröffnet neue und gezieltere Therapieoptionen, die unbedingt gebraucht werden.

mTOR Inhibition ist möglicherweise eine Option für mehrere dieser Defekte.

Weitere Studien sind notwendig, um Indikation und optimalen Zeitpunkt für HSCT bei diesen Patienten zu definieren.

Acknowledgements



**Prof. Dr. S. Ehl, Prof. B. Grimbacher
Prof. Dr. Reinhard Voll**

AG Warnatz

S. Gutenberger
I. Stumpf

B. Keller M. Ren
S. Unger K. Melo

AG Eibel

H. Eibel

B. Fischer

AG Grimbacher

B. Grimbacher

Inst. of Pathology UK Fr

M. Seidl, G. Kayser
A. Schmitt-Graeff, M. Werner

M. Rizzi

CVID Outpatient:

S. Goldacker C. Echternach A van de Ven
M. Klima M. Erler

Immune Diagnostics:

U. Salzer M. Rakhmanov R. Draeger

Collaborators:

A. Prasse, J. Müller-Quernheim
H. Tiddens Erasmus University Rotterdam, NL
K. Boztug CEMM Vienna, Austria
M. van der Burg, Erasmus univ. Rotterdam, NL
P. Stepenski, Hadassah, Jerusalem, Israel

Sponsors: DFG TRR130, BMBF, DFG



And especially all our patients!

