

Diagnostisches Vorgehen bei schwerem kombiniertem Immundefekt

S. Ehl¹, K. Schwarz² und W. Friedrich³

¹Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg,

²Abteilung Transfusionsmedizin, Universität Ulm und Institut für Klinische

Transfusionsmedizin und Immunogenetik, DRK-Blutspendedienst

Baden-Württemberg-Hessen, ³Universitätskinderklinik, Ulm

Schlüsselwörter

schwerer kombinierter Immundefekt Diagnostik Lymphopenie Knochenmarkstransplantation

Key words

severe combined immunodeficiency diagnostic lymphopenia bone marrow transplantation

Definition

SCID steht für "schwerer kombinierter Immundefekt". "Schwer" bezieht sich auf das vollständige Fehlen von spezifischer Immunität, "kombiniert" auf das Fehlen sowohl der B- als auch der T-Zellfunktion. SCID ist die phänotypische Beschreibung eines klinisch und immunologisch definierten Syndroms, dem verschiedene molekulare Ursachen zugrundeliegen können. Bisher sind 11 genetische Ursachen aufgeklärt, die etwa 90% aller SCID-Erkrankungen erklären [1]. Die Diagnose einer SCID-Erkrankung ist ein **immunologischer Notfall**. Diese Übersicht soll eine rasche und effiziente Diagnostik und Therapie von Kindern mit SCID unterstützen.

Molekulare Ursachen der Störung

Bei der SCID-Erkrankung sind im wesentlichen Gene betroffen, deren Produkte an der Reifung von Lymphozyten beteiligt sind [2]. Hierzu gehören Zytokinrezeptoren und deren signaltransduzierende Moleküle, die für die frühe Differenzierung und Reifung von Lymphozyten notwendig sind (IL-2R, JAK-3, IL-7R, CD45) sowie Proteine, die für die Ausbildung und Funktion von B- und/oder T-Zellrezeptoren notwendig sind (RAG-1, RAG-2, Artemis, CD3, CD3). Schließlich gibt es Stoffwechseldefekte, bei denen toxische Metaboliten in Lymphozytenvorläufern akkumulieren und dadurch deren Ausreifung verhindern (ADA-SCID, PNP-SCID). Die relative Häufigkeit der ein-

zelnen Gendefekte ist der Abbildung 1 zu entnehmen. Die genauere Funktion der betroffenen Proteine, der spezielle Phänotyp der einzelnen SCID-Varianten und die Konsequenzen für die individuelle Therapie und Prognose, werden in separaten Beiträgen zu molekularen Grundlagen der SCID-Erkrankung behandelt.

Pathogenese

Entscheidend für das schwere Krankheitsbild der SCID-Erkrankung ist das Fehlen funktioneller T-Zellen. Die B-Zellfunktion ist selbst bei normaler Entwicklung dieser Zellen aufgrund der fehlenden T-Zellhilfe für die Antikörperantwort immer zusätzlich beeinträchtigt. Wichtig ist der funktionelle Aspekt, denn es gibt durchaus SCID-Erkrankungen, bei denen T-Zellen vorhanden sind. Dies gilt einerseits für Erkrankungen, bei denen die T-Zellreifung nur begrenzt gestört ist (PNP-SCID), andererseits für hypomorphe Mutationen, die noch eine Restfunktion des betroffenen Proteins zulassen ("leaky" oder atypischer SCID). Eine besondere Situation ist die Persistenz maternaler T-Zellen nach transplazentarer materno-fetaler Transfusion [3]. Bei SCID-Patienten können diese Zellen, die nicht abgestoßen werden, proliferieren und signifikante Zahlen erreichen. Häufig sind die mütterlichen T-Zellen jedoch funktionell beeinträchtigt, so daß nur in einem Teil der Fälle durch Alloreaktivität eine klinisch manifeste GvH-Erkrankung z.B. im Bereich der Haut entsteht. In sehr seltenen Fällen verbleibt bei SCID-Erkrankungen noch soviel

Manuskript-Eingang
Received for publication
24. März 2005

Peer-reviewed

Manuskript-Annahme
Accepted for publication
7. April 2005

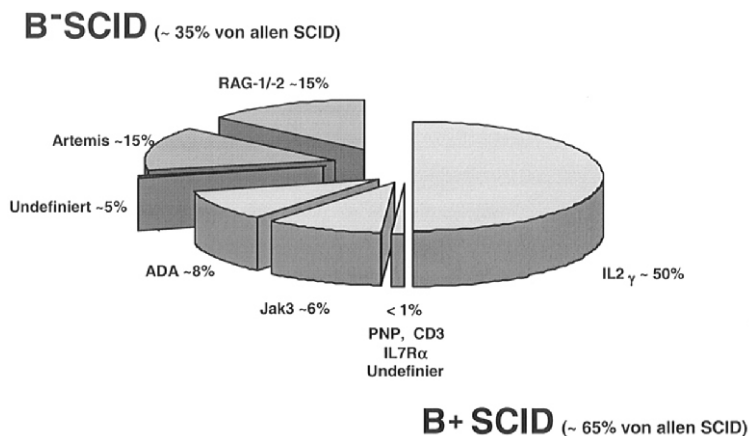


Abb. 1. Molekulare Ursachen der SCID-Erkrankung.

B- und T-Zellaktivität, daß Antikörper gebildet werden können, was die Diagnose erschweren kann.

Klinisches Bild

Klinische Manifestationen treten in aller Regel innerhalb der ersten sechs Lebensmonate auf. Es sind meistens protrahiert verlaufende Infektionen des Magen-Darmtrakts und der Atemwege (bakterielle Infektionen, Pilzinfektionen insbesondere durch *Pneumocystis jirovecii* und respiratorische Infektionen durch Viren wie RSV, Parainfluenzavirus oder humanes Metapneumovirus), schwere Varizellen, komplizierte Infektionen mit EBV, CMV oder Adenovirus oder ein hartnäckiger Soorbefall. Bei diesen Infektionen handelt es sich nicht nur um lebensbedrohliche Erkrankungen, sondern sie verschlechtern auch die Prognose einer erfolgreichen Therapie durch eine Knochenmarkstransplantation. Das Ziel muß sein, den Immundefekt so früh wie möglich zu erkennen, um rasch prophylaktische und therapeutische Maßnahmen und eine lebensrettende Therapie einleiten zu können.

Neben den oben genannten Infektionen sollten die folgenden Befunde Anlaß geben, an einen SCID zu denken: Familienanamnese eines Immundefekts bzw. eines unklaren frühen Kindstods im Rahmen einer Infektion, chronische, nicht beherrschbare Diarrhoe mit Gedeihstörung, eine unklare ekzematöse Hauterkrankung mit Zytopenie sowie eine schwere Impfkomplication nach BCG-Impfung

(in Deutschland nicht mehr empfohlen). Ganz wichtig ist es, bei der Blutbildbeurteilung von Säuglingen im Rahmen von Infekten immer einen Blick auf die Lymphozyten zu werfen. Entscheidend ist nicht die Prozent-, sondern die Absolutzahl der Lymphozyten, die mit den richtigen altersentsprechenden Normwerten in Beziehung gesetzt werden muß. **Bei jedem Kind, das im ersten Lebensjahr < 1.000 Lymphozyten/ l hat, muß an einen T-zellulären Immundefekt gedacht werden und eine Abklärung erfolgen [4].**

Vorgehen bei Verdacht auf SCID

Bei Verdacht auf eine SCID-Erkrankung erstreckt sich die Familienanamnese nicht nur auf die Frage nach weiteren Immundefekten in der Familie oder die globale Frage nach Konsanguinität der Eltern. Es muß, wenn irgendwie möglich, ein genauer Stammbaum über mindestens 3 Generationen angefertigt werden. Ein gutgeführter Stammbaum kann nicht nur einen Hinweis auf den Erbgang und damit wertvolle Hinweise für die genetische Diagnostik geben, sondern kann auch verborgene Konsanguinität aufdecken und als Grundlage für das Auffinden eines geeigneten Knochenmarkspenders in der Familie dienen.

Das charakteristische klinische Bild eines SCID-Patienten wird in aller Regel durch eine deutliche Dystrophie, durch Zeichen der Atemwegsinfektion mit Tachy-/Dyspnoe und durch Mundsoor geprägt. Bei der klinischen Untersuchung sollten der Entwicklungsstatus des Kindes beurteilt und Perzentilenkurven angelegt werden. Typisch für viele SCID-Erkrankungen ist ein Perzentilenknick im 3. bis 6. Lebensmonat mit dem Beginn chronischer Infektionen. Die typischen Stigmata des DiGeorge-Syndroms (tiefsitzende, abstehende Ohren, Mikrognathie, Hypertelorismus, kleine Nase mit kurzem Philtrum, hoher Gaumenbogen bis zur Spaltenbildung, Herzgeräusch) sollten geprüft werden, da sich das seltene komplette DiGeorge-Syndrom (< 1% der Patienten) wie ein SCID präsentieren kann. Eine neurologische Entwicklungsverzögerung besteht beim PNP-SCID [5]. Hautausschläge sollten gesucht und photodoku-

Tab. 1. Charakteristische Krankheitszeichen bei SCID.

- Zunehmende Gedeihstörung bei nicht beherrschbarer Enteritis (z.B. durch Rotavirus)
- Therapieresistente mukokutane Candidiasis (Soor)
- Persistierende Symptome im Bereich der Atemwege: anhaltend trockener Reizhusten fortbestehend Zeichen der Obstruktion zunehmend Tachydyspnoe/Zyanose
- Akute Pneumonie (z.B. durch Pneumocystis jirovecii)
- Lokale und systemische bakterielle Infekte
- Ekzematöse Hautveränderungen, Pruritus, Alopezie
- Keine tastbaren Lymphknoten, keine Tonsillen

mentiert werden. Sie können bis zur ausgeprägten Erythrodermie gehen und treten vor allem bei Kindern mit Omenn-Syndrom sowie bei einem Teil der Kinder mit materno-fetaler T-Zelltransfusion auf [6]. Lymphknoten und Tonsillen fehlen beim klassischen SCID, können aber beim Omenn-Syndrom oder materno-fetaler GvHD auch prominent sein [7]. In solchen Fällen kann auch eine Hepatosplenomegalie bestehen. Neben der Untersuchung auf bestimmte Stigmata und eine Beurteilung der Lymphgewebe muß immer auch nach Zeichen von Infektionskrankheiten gesucht werden, insbesondere Soor, Hinweise auf eine Pneumonie, Zeichen einer CMV-Infektion oder einer BCG-Impferkrankung. Direkte Erregernachweise sind anzustreben, da in der Regel keine spezifischen Antikörper vom Kind gebildet werden können.

Apparative Untersuchungen bei Verdacht auf SCID umfassen eine Sonographie des Thymus mit Ausmessen des Thymusvolumens [8] oder ein Röntgenbild des Thorax mit der Frage nach dem Thymusschatten. Bei ADA-SCID kann in einigen Fällen eine charakteristische Erweiterung der anterioren Rippenenden beobachtet werden [9]. Weitere Bildgebung richtet sich nach den vorliegenden Infektionskrankheiten.

Die Labordiagnostik beginnt mit einer sorgfältigen Bewertung des Blutbilds. Hierzu gehört eine Berechnung der absoluten Lymphozytenzahlen in bezug auf den altersentsprechenden Normwert (bei SCID meist unter 1.000/ l). Dabei muß bedacht werden, daß z.B. bei materno-fetaler Transfusion normale Lymphozytenzahlen vorkommen können. Häufig findet sich bei SCID eine Eosinophilie. Eine Hypogammaglobulinämie ist cha-

rakteristisch; hierbei ist aber zu bedenken, daß die IgG-Spiegel wegen der transplazentaren mütterlichen Antikörper nicht aussagekräftig sind. Ein erniedrigtes IgM ist in den ersten Lebensmonaten ein spezifischerer Hinweis auf einen Immundefekt. Zur Beurteilung der Immunglobulinspiegel sollte auch das Albumin bestimmt werden, um insbesondere bei vorliegender Enteropathie auszuschließen, daß der Immunglobulinmangel durch enteralen Verlust bedingt ist. Die Harnsäurebestimmung im Serum kann einen PNP-SCID weitgehend ausschließen, da bei dieser Erkrankung die Harnsäure in aller Regel deutlich erniedrigt ist.

Der nächste Schritt ist die genaue Charakterisierung der Lymphozyten mittels Durchflußzytometrie, bei der der Anteil an CD4+ und CD8+-T-Zellen, CD19+-B-Zellen und CD3-/CD16/56+-NK-Zellen bestimmt wird. Für die wesentliche Berechnung der Absolutzahlen ist es unbedingt notwendig, **am selben Tag ein Blutbild mit mikroskopischer Differenzierung** durchzuführen. Diese Schlüsseluntersuchung erlaubt in den meisten Fällen die Bestätigung der Diagnose sowie eine grobe Zuordnung des Phänotyps zu einem Genotyp, je nachdem, welche Lymphozytenpopulationen erniedrigt sind bzw. fehlen. Zur genaueren Einordnung der SCID-Erkrankung stehen eine Reihe von speziellen phänotypischen und funktionellen Untersuchungen der Lymphozyten zur Verfügung, die in den Kapiteln über die molekularen Ursachen der SCID-Erkrankung besprochen werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen bestimmen das Vorgehen bei der molekularen Diagnostik. Bei unklarem Befund muß neben Mutationen in noch nicht identifizierten Genen auch an hypomorphe Mutationen in bekannten Genen gedacht werden. Es ist wichtig festzuhalten, daß die Diagnose und damit die Indikation zur raschen Therapie nach klinischen und immunologischen Kriterien gestellt wird. Die genetische Sicherung der Diagnose ist wesentlich, darf aber nicht zu einem Zeitverlust im Hinblick auf die Therapie führen. Die weitere immunologische Diagnostik noch vor der Identifikation des molekularen Defekts sollte vor allem zwei Fragen beantworten:

- Sind die nachgewiesenen T-Zellen kindlichen oder mütterlichen Ursprungs [3]? Für diese Chimärismusuntersuchungen

- kann bei Jungen durch Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung der Anteil weiblicher, also mütterlicher Zellen bestimmt werden. Bei Mädchen kann der Chimärismus z.B. über Short-Tandem-Repeat-Analysen (STRs) bzw. durch HLA-Typisierung untersucht werden.
- Sind die verbleibenden T-Zellen funktionell aktiv? Diese Frage kann durch Proliferationsassays nach Mitogenstimulation in vitro beantwortet werden. Beide Informationen haben Einfluß auf die Strategie der Transplantation. In einigen Fällen sind Haut-, Leber oder Darmbiopsien zur Diagnose einer materno-fetalen GvHD indiziert.

Therapie und Prophylaxe

Die Knochenmarkstransplantation als wichtigste kurative Behandlungsmethode bei SCID, die Enzymersatztherapie bei ADA-SCID sowie der aktuelle Stand der Gentherapie bei SCID werden in einem separaten Kapitel besprochen. An dieser Stelle sollen Prophylaxe und Therapie bis zur Durchführung einer KMT erläutert werden. **Die Betreuung von SCID-Patienten sollte immer in einem in dieser Erkrankung erfahrenen Zentrum erfolgen, d.h. auch, daß diese Patienten so rasch wie möglich in ein Zentrum verlegt werden sollten.** Wichtigstes Prinzip ist zunächst die infektiologische Prophylaxe und Therapie. Kinder mit Verdacht auf SCID müssen isoliert werden, Händedesinfektion ist von zentraler Bedeutung, Kittelpflege ist notwendig. Eine prompte und hochdosierte Immunglobulinsubstitution muß begonnen werden. Der IgG-Spiegel im Serum soll 5 g/l nie unterschreiten. In der RSV-Saison ist darüber hinaus die Gabe von Palivizumab sinnvoll. Eine sofortige medikamentöse Prophylaxe einer Pneumozystis-jirovecii-Pneumonie ist von hoher Bedeutung. Immer sollten eine aggressive Diagnostik und Behandlung von Infektionen mit Versuch eines Erregernachweises (z.B. bei Atemwegsinfekten über BAL) durchgeführt werden. Für Einzelkinder kann möglicherweise unter entsprechenden Hygienevorschriften zunächst auch zu Hause die sicherste Umgebung sein, bevor eine Verlegung möglich wird.

Sonstige Aspekte der Behandlung umfassen eine ausreichende kalorische Versorgung, da fast immer als Folge von Infektionen die Darmfunktion eingeschränkt ist. Hierfür ist in der Regel ein zentraler Venenkatheter erforderlich. Im Rahmen dieses operativen Eingriffs sollte Trachealsekret für mikrobiologische Kontrolluntersuchungen gewonnen werden. Eine Hautbiopsie zur Anlage von Fibroblastenkulturen für genetische und funktionelle Untersuchungen wie Radiosensitivität [10] in derselben Narkose ist sinnvoll. Es ist wesentlich, darauf zu achten, daß bei Transfusionen ausschließlich bestrahlte und CMV-negative Blutprodukte verwendet werden. Die Transplantationsvorbereitung hat vom Augenblick der Diagnose an eine hohe Priorität und ist begleitend zu den übrigen Untersuchungen mit Nachdruck voranzutreiben. Hierzu gehört die frühzeitige Kontaktaufnahme mit einem Transplantationszentrum. Die HLA-Typisierung des Patienten, seiner Geschwister sowie beider Eltern sollte unter anderem aufgrund der begrenzten Blutproben in einem hiermit erfahrenen Labor erfolgen. Es ist wichtig, daran zu denken, daß die Typisierung von Kindern mit ausgeprägter materno-fetaler Transfusion zu irreführenden Ergebnissen führen kann. Gegebenenfalls muß die Typisierung aus Wangenschleimhautzellen oder aus einer Hautbiopsie durchgeführt werden.

Prognose

Ohne Knochenmarkstransplantation ist der Verlauf der SCID-Erkrankung immer letal. Bei transplantierten Kindern hängt die Prognose wesentlich vom Zeitpunkt der Durchführung und dem infektiologischen Verlauf vor und nach der Transplantation ab. Die Faktoren, die die Ergebnisse der Transplantation und die Prognose im einzelnen bestimmen, werden in den Kapiteln über die Therapie von SCID besprochen, ebenso genterapeutische Behandlungsansätze. Die SCID-Erkrankung kann heute in über zwei Drittel der Fälle geheilt werden.

Literatur

- [1] *Buckley R.H.*: Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annu. Rev. Immunol.* 22, 625-655 (2004).
- [2] *Fischer A., F. Le Deist, S. Hacein-Bey-Abina et al.*: Severe combined immunodeficiency. A model disease for molecular immunology and therapy. *Immunol. Rev.* 203, 98-109 (2005).
- [3] *Muller S.M., M. Ege, A. Pottharst, A.S. Schulz, K. Schwarz, W. Friedrich*: Transplacentally acquired maternal T lymphocytes in severe combined immunodeficiency: a study of 121 patients. *Blood* 98, 1847-1851 (2001).
- [4] *Buckley R.H.*: Primary cellular immunodeficiencies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 109, 747-757 (2002).
- [5] *Markert M.L.*: Purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Immunodef. Rev.* 3, 45-81 (1991).
- [6] *Denianke K.S., I.J. Frieden, M.J. Cowan, M.L. Williams, T.H. McCalmont*: Cutaneous manifestations of maternal engraftment in patients with severe combined immunodeficiency: a clinicopathologic study. *Bone Marrow Transplant.* 28, 227-233 (2001).
- [7] *Aleman K., J.G. Noordzij, R. de Groot, J.J. van Dongen, N.G. Hartwig*: Reviewing Omenn syndrome. *Eur. J. Pediatr.* 160, 718-725 (2001).
- [8] *Muller S.M., T. Kohn, A.S. Schulz, K.M. Debatin, W. Friedrich*: Similar pattern of thymic-dependent T cell reconstitution in infants with severe combined immunodeficiency after human leukocyte antigen- (HLA) identical and HLA-nonidentical stem cell transplantation. *Blood* 96, 4344-4349 (2000).
- [9] *Chakravarti V.S., P. Borns, J. Lobell, S.D. Douglas*: Chondroosseous dysplasia in severe combined immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency (chondroosseous dysplasia in ADA deficiency SCID). *Pediatr. Radiol.* 21, 447-448 (1991).
- [10] *O'Driscoll M., A.R. Gennery, J. Seidel, P. Concannon, P.A. Jeggo*: An overview of three new disorders associated with genetic instability: LIG4 syndrome, RS-SCID and ATR-Seckel syndrome. *DNA Repair (Amst.)* 3, 1227-1235 (2004).

PD Dr. med. S. Ehl
 Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
 Universitätsklinikum Freiburg
 Mathildenstraße 1
 D-79106 Freiburg
 e-mail: ehl@kikli.ukl.uni-freiburg.de