

## ALPS Newsletter No. 1

November 2014

Untersuchung von Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunität

### Inhalt

Freiburger ALPS Studie: Patientenzahlen und-verteilung  
Diagnostik  
Therapie  
Pathogenese  
Neue Defekte  
Prognose  
Offene Fragen und Perspektiven

Wie können Sie uns unterstützen?

### Kontakt

<http://www.uniklinik-freiburg.de/ci/studien/alps.html>

#### Informationen zur Studie, klinisch/therapeutische Beratung:

Carsten Speckmann  
carsten.speckmann@uniklinik-freiburg.de

#### Informationen zur Studie und assoziierten wissenschaftlichen Projekten, Anmeldung von Proben für wissenschaftliche Untersuchungen:

Anne Rensing-Ehl  
anne.rensing-ehl@uniklinik-freiburg.de

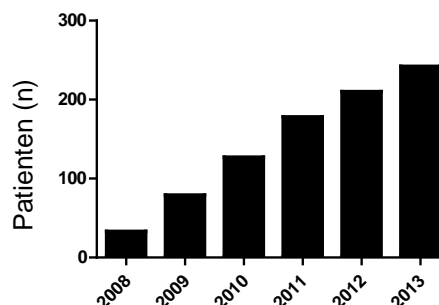
#### Anmeldung von Patientenproben für diagnostische Tests:

Mirzokhid Rakhmanov  
mirzokhid.rakhmanov@uniklinik-freiburg.de  
Ilka Fuchs  
ilka.fuchs@uniklinik-freiburg.de  
(ab Februar 2015)

### Freiburger ALPS Studie

Die Freiburger ALPS Studie läuft seit 5 Jahren. Es werden Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunzytopenie(n) oder Patienten mit Autoimmunzytopenien in mindestens 2 Zellreihen ohne Lymphoproliferation (Evans-Syndrom) eingeschlossen. Studienziele sind die Etablierung und Validierung diagnostischer Algorithmen, die Identifikation neuer genetischer Defekte und die prospektive Verlaufsbeobachtung von Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunzytopenie(n). Dank Ihrer Mithilfe konnten über die letzten Jahre 254 Patienten rekrutiert werden.

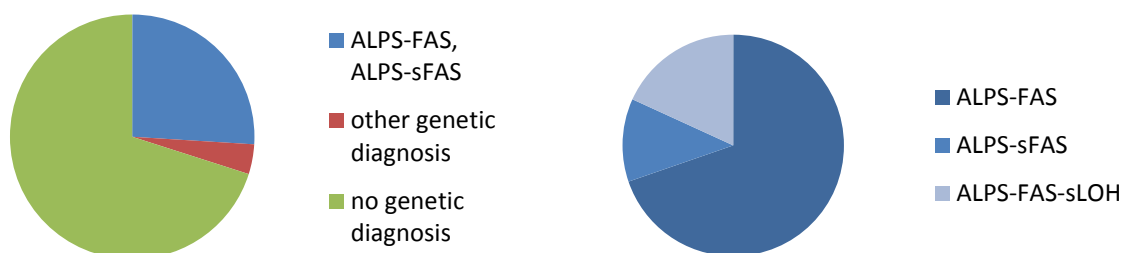
Abb. 1: Patientenzahlen



Rekrutierte Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunzytopenie(n) am CCI. Kumulative Patientenzahlen von 2008-2013.

Unter den Patienten hatten 66 (26%) eine *FAS* Mutation, davon 58 eine Keimbahn- (ALPS-FAS) und 8 eine somatische *FAS* Mutation (ALPS-sFAS). Unter den 58 ALPS-FAS Patienten zeigten 12 zusätzlich eine somatische LOH (loss of heterozygosity, ALPS-FAS-sLOH). 12 Patienten hatten eine andere genetisch definierte Diagnose (Tab. 1). Bei einem Großteil der Patienten (70%) ist die genetische Diagnose aktuell noch unklar (Zusammenarbeit mit Myriam Lorenz und Klaus Schwarz, Ulm).

**Abb. 2: Studienkohorte "Lymphoproliferation und Autoimmunität"**



Verteilung der Patienten mit *FAS* Mutationen, anderen genetischen Diagnosen oder undefinierten genetischen Defekten unter den Studienpatienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunzytopenie(n).

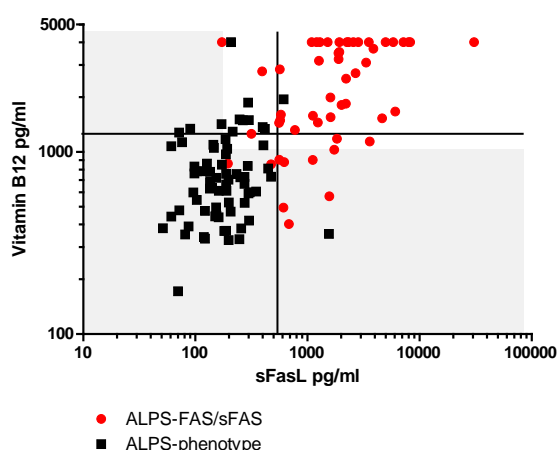
## Diagnostik

Ziel der ersten Studienphase bis 2012 war die prospektive Evaluierung des diagnostischen Wertes verschiedener Biomarker für den Ausschluss bzw. die Identifizierung von Patienten mit *FAS* Mutationen.

Die Bestimmung von Vitamin B12 und löslichem Fas Ligand (sFASL) im Serum hat in Kombination einen exzellenten Vorhersagewert für das Vorliegen einer *FAS* Mutation. Die herkömmliche Untersuchung der Apoptoseinduktion und die Bestimmung der doppelt negativen T Zellen (DNT) ist dagegen deutlich weniger hilfreich.

*Rensing-Ehl et al. Haematologica 98: 194. 2013; (12), gefördert von PID-NET und CCI (BMBF).*

**Abb. 3: Biomarker Verteilung**



Vitamin B12 und Serum sFASL Werte für ALPS-FAS/sFAS Patienten (rot) versus Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunzytopenie(n) ohne *FAS* Mutationen (ALPS-phenotype; schwarz). Grauer Bereich: Normwerte; Schwarze Linien: Biomarker „cut-off“ Werte.

## ➔ Warum ist das wichtig?

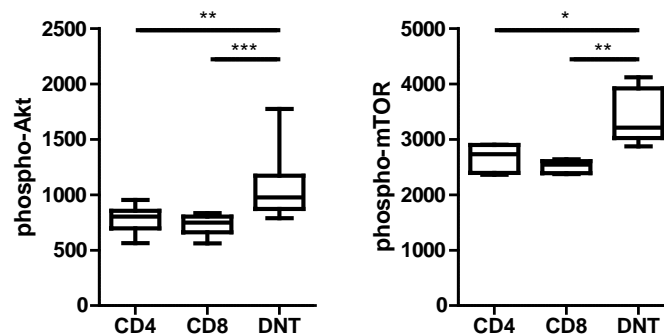
Bei ca. 15% aller Patienten kann die FAS Mutation nicht in der DNA aus Vollblut nachgewiesen werden, sondern nur in der DNA von sortierten DNT-Zellen (bei Patienten mit somatischer FAS Mutation) oder durch aufwändige Analyse intronischer Sequenzen bzw. von FAS mRNA (bei Patienten mit intronischen FAS Mutationen, sogenannten "versteckten" FAS Mutationen) (Zusammenarbeit F. Rieux-Laucat, Paris).

## Pathophysiologie und Therapie

Wir konnten kürzlich zeigen, dass es sich bei den doppelt negativen T Zellen (DNT) bei ALPS-FAS Patienten entgegen der bisherigen Hypothesen nicht einfach um seneszente T Zellen handelt, die sich aufgrund eines defekten Todessignals am Ende ihrer Differenzierung anhäufen. DNT sind aktiv proliferierende Zellen mit einem aberranten Transkriptionsprogramm, das vor allem durch einen hyperaktiven AKT-mTOR Signalweg gekennzeichnet ist (Zusammenarbeit mit S. Völkl und A. Mackensen, Erlangen).

*Rensing-Ehl/Völkl et al. Blood 124: 841, 2014;124 und Völkl/Rensing-Ehl et al. Manuskript in Vorbereitung.*

**Abb. 4: Hyperaktive Akt Signalgebung in ALPS DNT**

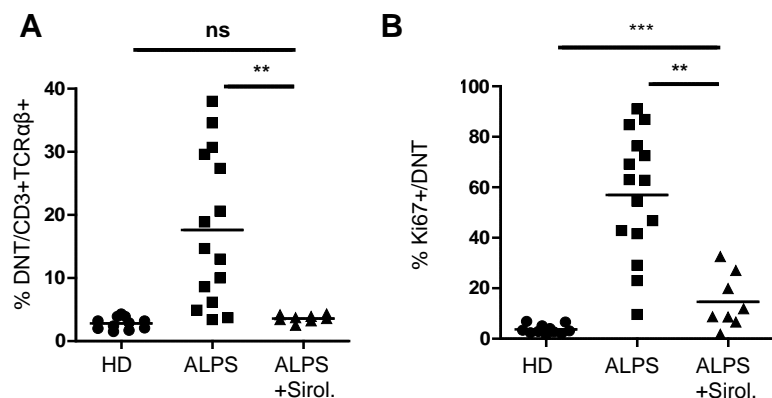


Phosphorylierung der Proteinkinasen AKT und mTOR in CD4+ T-Helferzellen, CD8+ zytotoxischen T-Zellen und DNT-Zellen von ALPS-FAS Patienten

## ➔ Warum ist das wichtig?

Die ALPS Erkrankung spricht sehr gut auf den mTOR Inhibitor Rapamycin (Sirolimus) an. Sowohl Lymphoproliferation als auch Autoimmunzytopenien lassen sich bereits mit niedrigen Dosen oft hervorragend beeinflussen.

**Abb. 5: Effekt von Rapamycin auf ALPS DNT**



Prozent zirkulierende DNT (A) und Ki67 Expression der DNT Zellen als Marker proliferativer Aktivität (B) in ALPS-FAS Patienten vor und nach Behandlung mit Rapamycin (Sirolimus).

## Pathogenese von Lymphoproliferation und Autoimmunität

Neben dem ALPS und seinen Subtypen gibt es ein weiteres Spektrum von bekannten und neuen Immundefekten, die den klinischen Phänotyp Lymphoproliferation und Autoimmunität hervorrufen können.

### ➡ Warum ist das wichtig?

Einem großen Teil der Patienten mit Lymphoproliferation und Autoimmunität kann immer noch keine klare Diagnose gegeben werden. Wir arbeiten aktuell an einem diagnostischen Algorithmus für diese Patienten und versuchen durch erweiterte immunologische und genetische Analysen, neue Ursachen zu identifizieren. Eine genetische Panel-Untersuchung (Klaus Schwarz, Ulm) mit 20 Genen wird die Abklärung vereinfachen. Diese erweiterte genetische Diagnostik steht ab Anfang 2015 auf Forschungsbasis bei einzelnen Patienten zur Verfügung.

**Tabelle 1: Patienten mit anderen definierten Diagnosen**

Diagnose	Patient No
CVID	20
CASP10	1
RALD	1
XIAP	1
CD25	1
STIM1	1
XCGD	1
LRBA	2
DiGeorge Sy	2
PI3Kdelta	1
CTLA4	1

## Prognose

Der klinische Verlauf des ALPS ist hoch variabel. Erste Krankheitssymptome zeigen sich meistens im Kleinkindalter, können aber selten auch erst in der 3.- 4. Lebensdekade auftreten. Unter den lymphoproliferativen Symptomen ist die Splenomegalie führend und bereitet insbesondere in den ersten Lebensjahren oft relevante klinische Probleme (z.B. Hypersplenismus, Bauchschmerzen). Bei einem Drittel der splenektomierten Patienten kommt es zu lebensbedrohlichen Septitiden. Während die Lymphoproliferation im Krankheitsverlauf meist rückläufig ist, behalten viele ALPS Patienten auch im Erwachsenenalter behandlungsbedürftige Autoimmunzytopenien. Andere Autoimmunphänomene (z.B. Nephritis) sind möglich, aber selten. Die meisten bösartigen Lymphome (ungefähr zur Hälfte Hodgkin und Non-Hodgkin Lymphome) manifestieren sich nach der Adoleszenz. Insgesamt liegt das kumulative Lymphomrisiko beim ALPS bei ca. 15% bis zum 30. Lebensjahr. Die Lebenserwartung von ALPS-Patienten ist nur geringfügig erniedrigt. Todesfälle sind v.a. mit Septitiden nach Splenektomie, gelegentlich auch mit Lymphomen, assoziiert. Die meisten Lymphompatienten zeigen jedoch ein gutes Ansprechen auf konventionelle Chemotherapie. *Neven et al. Blood 2011, Price et al. Blood 2014.*

### ➡ Warum ist das wichtig?

Eine Splenektomie sollte bei ALPS Patienten vermieden werden, da sie das Risiko für invasive bakterielle Infektionen deutlich erhöht. Sirolimus verbessert eine ausgeprägte Splenomegalie oft deutlich; ein Behandlungsversuch vor Splenektomie ist gerechtfertigt. Rituximab kontrolliert Autoimmunzytopenien beim ALPS nicht langfristig und führt wahrscheinlich

aufgrund des vorbestehenden B-Zell Defekts gehäuft zu persistierenden Hypogammaglobulinämien. Mycophenolatmofetil (und wahrscheinlich auch Sirolimus) scheint die Autoimmunzytopenien gut und nebenwirkungsarm zu kontrollieren. ALPS Patienten, auch asymptomatische Mutationsträger, sollten bezüglich Ihres erhöhten Lymphomrisikos lebenslang überwacht werden.

### Perpektiven: Was wollen wir mit der Studie noch lernen?

- Haben die Biomarker neben dem diagnostischen auch einen prognostischen Wert?
- Welche Rolle spielen Biomarker in der Beurteilung des Therapieansprechens?
- Sind die Biomarker auch bei Patienten mit anderen genetischen Diagnosen, z.B. RALD verändert?
- Wie lange sollten Patienten mit Sirolimus behandelt werden?
- Welches Nebenwirkungsprofil gibt es bei der Behandlung?
- Wie wirkt sich Sirolimus auf das Lymphom Risiko aus?
- Gibt es unter den Patienten ohne FAS-Defekt Subgruppen, die ähnliche klinische und immunologische Befunde haben?
- Welche genetischen Ursachen liegen bei diesen Patienten vor?
- Warum wird der AKT-mTOR Signalweg angeschaltet und auf welchem Differenzierungsstadium?
- Können neuartige Therapiekonzepte aus diesen Beobachtungen abgeleitet werden?

### Wie können sie uns dabei helfen?

- Wir brauchen weiterhin regelmäßig Ihre **Rückmeldung** zu Ihren Patienten, damit die Erfahrungen zentral in unserem Register zusammenfließen können. Nur dadurch wird eine Beratung zu Diagnose und Therapie auf hohem Niveau möglich.
- Bitte reichen Sie mit Ihren Blutproben die **klinischen Datenblätter** ein. Dies gilt sowohl für Ersteinsendung als auch bei „Follow-up“ Untersuchungen. Wir haben hierfür speziell ein klinisches Follow-up Datenblatt (FU-CDS) entworfen. Bitte verwenden Sie keine veralteten Formulare, sondern laden Sie sich die aktuellen Datenblätter von der CCI Homepage herunter. <http://www.uniklinik-freiburg.de/cci/studien/alps.html>
- Bitte reichen Sie mit Ihren Blutproben die **Einverständniserklärungen** ein, ohne die wir die Patienten nicht in die Studie einschließen können.
- Bitte denken Sie bei Ersteinsendung und bei indizierter genetischer Analyse an die **Überweisungsscheine**. Wir können die z.T. Personal-aufwendigen Untersuchungen zwar ohnehin nicht angemessen abrechnen, aber auch die Drittmittelfinanzierung reicht für die Deckung der Diagnostikkosten nicht aus. Gemeinsam geht es.
- Wir werden Sie einmal jährlich zu Ihrem Patienten kontaktieren. Wir versuchen, den Datensatz auf ein Minimum zu beschränken. **Follow-up Untersuchungen im Rahmen der Studie werden nicht abgerechnet**, dafür sind wir dankbar für Ihre wichtigen klinischen Follow-up Informationen.

- Wir möchten darüber hinaus gerne mehr Daten zu den Folgen einer Sirolimus-Therapie sammeln. Bitte schicken Sie unmittelbar **vor** und bei erster Vorstellung **nach Sirolimus** 10 ml EDTA Blut und 2-3 ml Serum.
- Für **erweiterte immunologische und genetische Untersuchungen** bei Patienten ohne *FAS* Mutation, aber schwerem klinischem Phänotyp benötigen wir nach Absprache **zusätzliche Blutproben**.
- Bitte kündigen Sie die Proben immer vorher bei uns an, sodass wir vorbereitet sind, und möglichst viele Informationen aus den Proben gewinnen können.

**Wir danken Ihnen für die Unterstützung dieser Studie. Wir hoffen, Ihnen und Ihren Patienten in der Diagnostik, vor allem aber auch langfristig mit den gewonnenen Erkenntnissen helfen zu können.**

**Bitte kontaktieren Sie uns, wenn Sie bisher nicht an der Studie teilgenommen haben, wir aber Ihr Interesse geweckt haben.**

*Diese Studie wird von der Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Immunologie (**API**) und der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (**GPOH**) unterstützt. Die Arbeiten werden mit Unterstützung des BMBF durchgeführt (Projekte **PID-NET** und **IFB-CCI**).*