

SERIE: NEUE IMMUNDEFEKTE (36)

Defekte bei TLR7, MDA5 und RIG-I

Volker Wahn, Berlin

Nicht zuletzt durch COVID-19 wurde die Bedeutung der natürlichen Virusabwehr ins Bewusstsein der medizinischen Öffentlichkeit gerückt. Die wichtige Rolle der zytoplasmatischen Sensoren bei der Erkennung von viraler RNA wird durch genetisch bedingte Defekte dieser Sensoren besonders deutlich. Der Defekt des endosomalen Sensors TLR3 (Toll-like Rezeptor 3) wurde bereits im Zusammenhang mit der Herpesenzephalitis diskutiert (vgl. [↗ Teil 6: Pädiatrische Allergologie, 2/2013, S. 26–27](#)). Hier nun gehen wir auf den endosomalen Defekt des TLR7 sowie auf Defekte zweier zytoplasmatischer RNA-Sensoren ein.

Loss-of-function-Defekt bei TLR7

Da jüngere gesunde Personen normalerweise nicht schwer an COVID-19 erkranken, war es naheliegend, bei jungen Patientinnen und Patienten mit schweren Verläufen nach zugrunde liegenden Gendefekten zu suchen. Van der Made CI et al. beschrieben 4 junge Männer mit einem mittleren Alter von 26 Jahren, die maschinell beatmet werden mussten [11]. Ein Patient von diesen 4 verstarb. Mittels Whole Exome Sequencing konnten genetische Loss-of-function-Varianten (LOF-Varianten) im X-chromosomal kodierten *TLR7*-Gen nachgewiesen werden. Bei Stimulation der Zellen der Patienten in vitro mit dem TLR7-Agonisten Imiquimod zeigte sich eine verminderte Synthese von Typ-I- und Typ-II-Interferonen, die die natürliche Immunität gegenüber RNA-Viren wie SARS-CoV-2 beeinträchtigte.

MDA5-Defekte (*IFIH1*-Gen)

Autosomal-rezessive Form (LOF-Mutation)

Die biologische Rolle von MDA5 (melanoma-differentiation-associated gene 5) für die Virusabwehr wurde erstmals 2006 von Kato et al. publiziert [4]. Der homozygote Defekt beim Menschen wurde 2017 identifiziert [6]. Die Autorinnen und Autoren untersuchten ein Kind mit einer

ungewöhnlichen Anfälligkeit gegenüber verschiedenen respiratorischen Viren (Rhino-, Influenza- und RS-Viren). Sie fanden eine homozygote Missense-Mutation bei *IFIH1*. Das Genprodukt MDA5 war zwar exprimiert, reagierte aber nicht mit einem üblichen doppelsträngigen RNA-Agonisten. Eine experimentelle Rhinovirusinfektion konnte weder in Epithelzellen noch in Fibroblasten kontrolliert werden, die Synthese der Typ-I-Interferone IFN- β und IFN- λ war deutlich reduziert. Diese Effekte waren spezifisch für Rhinoviren und bei Verwendung von Influenza- und RS-Viren nicht nachweisbar. Somit ist dieser Defekt in erster Linie für schwer verlaufende Rhinovirusinfektionen verantwortlich.

Der zweite Fall stellte sich etwas anders dar [12]. Das Kind konsanguiner ägyptischer Eltern fiel zunächst auf durch Mikrozephalie, schwere psychomotorische Retardierung, Krämpfe und eine Katarakt auf. Als Erklärung für diese Befunde wurde ein Defekt bei *PHGDH* (kodiert 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase) gefunden. Im Verlauf entwickelte sich eine chronische Atemwegsinfektion im Zusammenhang mit Epstein-Barr-Virus (EBV), die durch den Enzymdefekt nicht erklärt war. Die erneute Überprüfung der Ergebnisse des Whole Exome Sequencings führte zum Nachweis einer Nonsense-Mutation bei *IFIH1*. Die zytosolische Erkennung

von langer Doppelstrang-RNA mit nachfolgender Aktivierung des Typ-I-IFN-Signalwegs war nicht möglich.

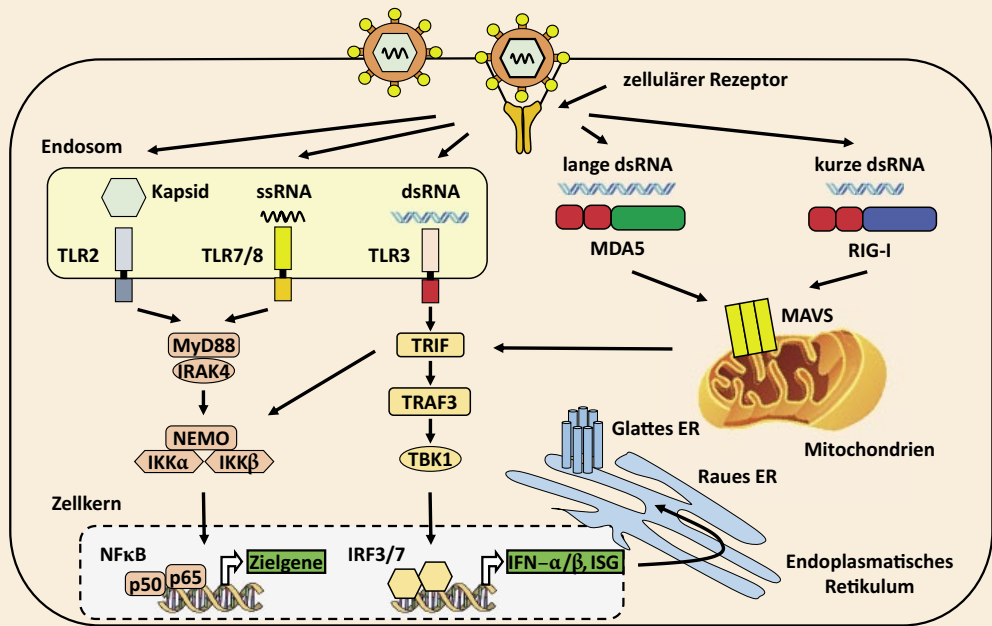
Bereits vorher wurde beschrieben, dass Missense-Mutationen im *IFIH1*-Gen auch mit systemischen Candidainfektionen assoziiert sein können [1]. Der zugrundeliegende Mechanismus dafür ist allerdings nicht klar, und die Beobachtung ist noch nicht bestätigt worden.

Autosomal-dominante Form (heterozygote *IFIH1* GOF-Mutation)

Das klinische Bild dieser erstmals von Oda et al. sowie Rice et al. beschriebenen Variante unterscheidet sich deutlich von dem der homozygoten LOF-Mutation [8, 9]. Der Defekt wird zu den monogenen Typ-I-Interferonopathien gezählt (Übersicht bei [5]) und schließt Krankheitsbilder wie das genetisch heterogene Aicardi-Gutières-Syndrom (früh manifeste kalzifizierende Enzephalopathie mit chronischer Liquorlymphozytose) und Singleton-Merten-Syndrom (deformierende Arthropathie, abnorme Zahnentwicklung, Herzklappenverkalkung) mit ein. Alle Mutationen sind Gain-of-Function (GOF) und von einem verstärkten Typ-I-IFN-Signaling begleitet. Heterozygote *IFIH1*-Mutationen führen dazu, dass MDA5 auf endogene Nukleinsäuren sowie auf virale RNA verstärkt reagiert und große Mengen an IFN-I synthetisiert. Die

Abbildung 1. Innate Immunity und Viren

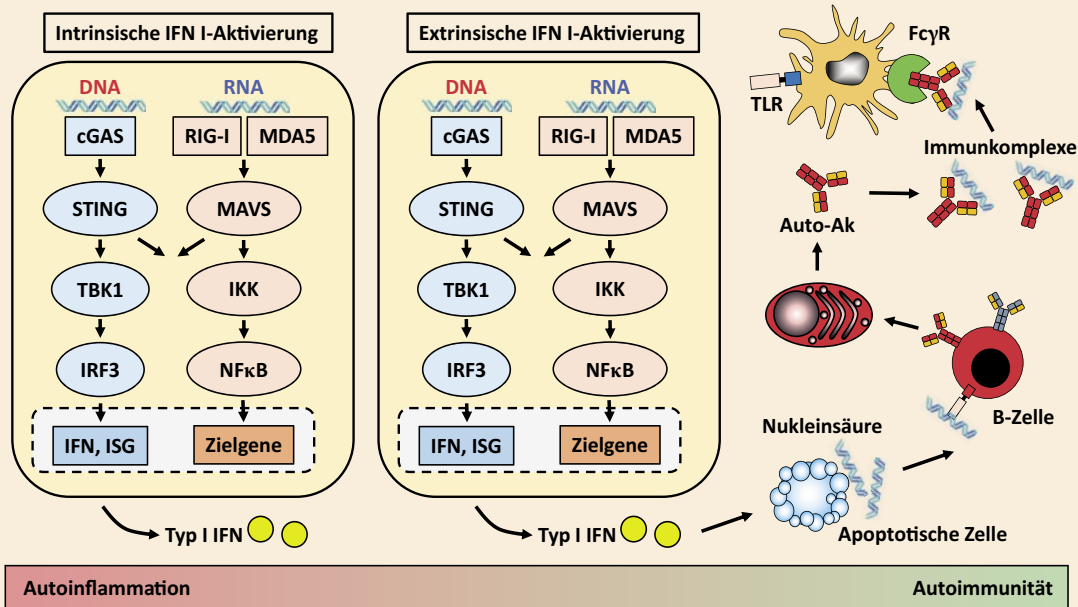
Nach Eintritt eines Virions in eine Atemwegszelle akkumulieren Virusstrukturen sowohl im Endosom als auch im Zytosol. In beiden Kompartimenten gibt es Sensoren für virale Bestandteile, so im Endosom die Toll-like-Rezeptoren (TLR) 2, 3 und 7/8, im Zytosol die Sensoren MDA5 und RIG-I. Nach Aktivierung der weiteren Signalwege werden die Transkriptionsfaktoren IRF3/7 und NFκB aktiviert und in den Zellkern transloziert. IRF3/7 unterstützt die Transkription von Typ-I-IFN und anderer ISG (interferon-stimulated genes). NFκB fördert die Transkription diverser Zielgene, die notwendig sind für Zellüberleben, Proliferation, Inflammation und Immunregulation. Im Zytosol erkennt MDA5 lange Doppelstrang-RNA (dsRNA), RIG-I kurze dsRNA. Danach wird MAVS (Mitochondrial antiviral-signaling protein) aktiviert, welches in der äußeren Membran von Mitochondrien lokalisiert ist. Es kann über TRIF ebenfalls Signalwege mit NFκB und IRF3 aktivieren.



aus [7]

Abbildung 2. Typ-I-Interferon (Typ-I-IFN): Autoinflammation und Autoimmunität

Die intrinsische Aktivierung der Typ-I-Interferone in Immunzellen erfolgt über die zytosolischen Sensoren für DNA und RNA. cGAS (cyclic GMP-AMP synthase) sendet dann Signale über STING (stimulator of interferon genes), RIG-I und MDA5 über MAVS (Mitochondrial antiviral-signaling protein). Als Ergebnis des Signalings kommt es über IRFs zur Transkription von Typ-I-IFN und IFN-stimulierten Genen, über NFκB zur Transkription proinflammatorischer Zytokine. IFN-stimulierte Genprodukte verändern den Zellstoffwechsel, arretieren den Zellzyklus und sensibilisieren Zielzellen für Apoptose. Nucleinsäuren, die aus apoptotischen Zellen freigesetzt wurden, können durch autoreaktive B-Zellen über bestimmte TLR wie TLR9 registriert werden. Ausdifferenzierte Plasmazellen bilden dann Autoantikörper, die mit Nucleinsäuren Immunkomplexe bilden können. Diese können an dendritische Zellen (DC) über deren FcγR binden. Letztere Zellen können Zelltrümmer mit Nucleinsäuren auch per Endozytose aufnehmen und die darin enthaltenen Antigene präsentieren. Schließlich nutzen DC ihre TLR als weitere Erkennungsstrukturen, über die Signale zur Zytokinsynthese getriggert werden. Zielgene von NFκB sind proinflammatorisch wirksam.



Nucleinsäuren, die aus apoptotischen Zellen freigesetzt wurden, können durch autoreaktive B-Zellen über bestimmte TLR wie TLR9 registriert werden. Ausdifferenzierte Plasmazellen bilden dann Autoantikörper, die mit Nucleinsäuren Immunkomplexe bilden können. Diese können an dendritische Zellen (DC) über deren FcγR binden. Letztere Zellen können Zelltrümmer mit Nucleinsäuren auch per Endozytose aufnehmen und die darin enthaltenen Antigene präsentieren. Schließlich nutzen DC ihre TLR als weitere Erkennungsstrukturen, über die Signale zur Zytokinsynthese getriggert werden. Zielgene von NFκB sind proinflammatorisch wirksam.

aus [5]

vermutlich größte Kohorte mit derartigen GOF-Mutationen analysierten Rice et al. [10]. Bei insgesamt 74 Patienten konnten 27 verschiedene wahrscheinlich pathogene Mutationen bei *IFIH1* gefunden werden. Bei allen Patienten war das IFN-I-Signaling verstärkt.

RIG-I-Defekt (Gen: DDX58)

Während MDA5 als zytosolischer Rezeptor für Doppelstrang-RNA (dsRNA) aus Picorna-, Rhino- und Rotaviren fungiert, nutzen Orthomyxo-, Paramyxo- und Flaviviren RIG-I (retinoic acid-inducible gene 1). MDA5 erkennt lange dsRNA (Doppelstrang-RNA), während RIG-I neben kurzer dsRNA auch Einzelstrang-RNA (ssRNA) erkennen kann. Bei bestimmten Viren, wie z. B. RSV, können sich beide zytosolischen Sensoren gegenseitig ersetzen, sind somit redundant.

Ein Patient mit 2 heterozygoten Mutationen in *cis* (= regulatorisches Gen) im *DDX58*-Gen (DEXD/H-box helicase 58) wurde 2018 von Jørgensen beschrieben [3]. Klinisch zeigte dieser eine schwer verlaufende Influenza-A-Pneumonitis. Die Relevanz der Heterozygotie wurde im Sinne eine Haploinsuffizienz mit autosomal-dominantem Erbgang gedeutet. Später wurden Zweifel geäußert, ob die genetischen Veränderungen in der Tat pathogen sind [2]. Homozygote Defekte im *DDX58*-Gen sind bisher nicht bekannt [7]. Weitere Beobachtungen sind somit nötig, bevor die von Jørgensen [3] beschriebenen Veränderungen im Sinne eines monogenen Immundefekts verstanden werden können.

Die Rollen von TLR7, MDA5 und RIG-I werden in Abbildung 1 und Abbildung 2 kurz grafisch illustriert.

Fazit

Gendefekte von endosomalen und zytosolischen Rezeptoren für virale RNA illustrieren die klinische Relevanz der Synthese von Typ-I-Interferonen. Die Unterproduktion von IFN-I führt zur Anfälligkeit gegenüber Virusinfektionen, die Überproduktion von IFN-I zu Interferonopathien und Autoimmunität. In jedem Einzelfall solcher Defekte muss geklärt werden, ob eine LOF- oder GOF-Mutation vorliegt, damit die Krankheitsbilder klinisch richtig eingeordnet werden.

Prof. Dr. med. Volker Wahn

Charité Universitätsmedizin Berlin
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt
Pneumologie und Immunologie
Augustenburger Platz 1 | 13353 Berlin
volker.wahn@charite.de

Literatur

- 1 Jaeger M, van der Lee R, Cheng SC et al. The RIG-I-like Helicase Receptor MDA5 (IFIH1) is Involved in the Host Defense Against Candida Infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34(5): 963–974
- 2 Jing H, Su HC. New immunodeficiency syndromes that help us understand the IFN-mediated antiviral immune response. *Curr Opin Pediatr*. 2019; 31(6): 815–820
- 3 Jørgensen SE, Christiansen M, Ryø LB et al. Defective RNA Sensing by RIG-I in Severe Influenza Virus Infection. *Clin Exp Immunol* 2018; 192(3): 366–376
- 4 Kato H, Takeuchi O, Sato S et al. Differential Roles of MDA5 and RIG-I Helicases in the Recognition of RNA Viruses. *Nature* 2006; 441(7089): 101–5
- 5 Kretschmer S, Lee-Kirsch MA. Type I interferon-mediated autoinflammation and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2017; 49: 96–102
- 6 Lamborn IT, Jing H, Zhang Y et al. Recurrent Rhinovirus Infections in a Child With Inherited MDA5 Deficiency. *J Exp Med* 2017; 214(7): 1949–1972
- 7 Lamborn IT, Su HC. Genetic determinants of host immunity against human rhinovirus infections. *Hum Genet*. 2020; 139(6-7): 949–959
- 8 Oda H, Nakagawa K, Abe J et al. Aicardi-Goutieres syndrome is caused by IFIH1 mutations. *Am J Human Genetics* 2014; 95(1): 121–125
- 9 Rice GI, Del Toro Duany Y, Jenkinson EM et al. Gain-of-function mutations in IFIH1 cause a spectrum of human disease phenotypes associated with upregulated type I interferon signaling. *Nature Genetics* 2014; 46(5): 503–509
- 10 Rice GI, Park S, Gavazzi F et al. Genetic and phenotypic spectrum associated with IFIH1 gain-of-function. *Hum Mutat*. 2020; 41(4): 837–849
- 11 Van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J et al. Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. *JAMA* 2020; 324(7): 1–11
- 12 Zaki M, Thoenes M, Kawalia A et al. Recurrent and Prolonged Infections in a Child With a Homozygous IFIH1 Nonsense Mutation. *Front Genet* 2017; 8: 130

Die Homepage der GPA – immer aktuell