



## **Sindrome Iper-IgE: identificazione di una nuova mutazione**

Valentina Domenech, Lorenzo Andrea Bassi, Tiziana Boggini, Luca Bosa,  
Federico Cattaneo, Thomas Foiadelli, Chiara Gagliardone, Roberta Maragliano,  
Amelia Mascolo, Giovanni Raimondo Pieri, Rossella Porto,  
Giulia Rossetti, Antonietta Marchi

*Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia,  
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

---

### ***Sindrome Iper-IgE: identificazione di una nuova mutazione***

La Sindrome Iper-IgE o Sindrome di Giobbe è una rara immunodeficienza primitiva caratterizzata da eczema cutaneo, ascessi cutanei recidivanti, infezioni ricorrenti delle alte e basse vie respiratorie con formazione di pneumatoceci ed elevati livelli di IgE policlonali nel siero. Si tratta di un disordine multisistemico con coinvolgimento del sistema immunitario, dell'apparato scheletrico, dei tessuti connettivi ed anomalie cardiovascolari. Ha un'incidenza stimata di circa 1/100,000 nati vivi, senza prevalenza di sesso e razza. Esordisce comunemente in epoca neonatale. Ad oggi sono stati descritti circa 250 pazienti. Esistono due varianti della Sindrome Iper-IgE: la mutazione del gene per il Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) determina la forma autosomica dominante, mentre mutazioni a carico dei geni per la Tyrosine Kinase 2 (Tyk2) e per il Deducator of Cytokines 8 (DOCK8) sono responsabili della forma autosomica recessiva. Data la presenza di livelli di IgE sieriche molto elevati esiste nozione in letteratura di un rischio aumentato in questi soggetti di reazioni allergiche gravi fino allo shock anafilattico, ma risulta difficile risalire ad un caso investigato e francamente associato alla sindrome di Giobbe. Descriviamo il caso clinico di X.Y. seguito fin dalla nascita presso il nostro centro con diagnosi di sindrome Iper-IgE su base clinica dall'età di 13 mesi. Il paziente torna alla nostra attenzione per una reazione allergica grave dopo assunzione di pinoli. Nell'ambito del workup immunoallergologico è stato eseguito il sequenziamento del gene STAT3 che ha evidenziato una nuova mutazione in un sito poco coinvolto da mutazioni e fino ad oggi mai descritto.

### ***Hyper-IgE Syndrome: identification of a new mutation***

The Hyper-IgE Syndrome or Job's Syndrome is a rare primary immunodeficiency characterized by skin eczema, recurrent skin abscesses, recurrent infections of the upper and lower respiratory tract with formation of pneumatoceci and high levels of polyclonal IgE in serum. It is a multisystem disorder with involvement of the immune system, the skeletal system, connective tissue and cardiovascular abnormalities. It has an estimated incidence of approximately 1/100,000 live births, with no predominance of sex and race. Commonly begins in the neonatal period. To date, approximately 250 patients have been described. There are two variants of the Hyper-IgE syndrome: a mutation in the gene for the Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) determines the autosomal dominant form, while mutations in the genes for the Tyrosine Kinase 2 (Tyk2) and the Deducator of cytokines 8 (DOCK8) are responsible for the autosomal recessive form. On the presence of very

high levels of serum IgE there is notion in literature of an increased risk in these patients of severe allergic reactions up to anaphylactic shock, but it is difficult go back to a case investigated and frankly associated with the syndrome of Job. We report the clinical case of X.Y. followed from birth in our center with the diagnosis of Hyper-IgE syndrome on clinical basis since the age of 13 months. The patient comes back to our attention for a severe allergic reaction after eating pine nuts. As part of the workup immunoallergologico was performed the STAT3 gene sequencing that showed a new mutation never described so far and involving a site lacking of mutations.

---

## **Introduzione**

### ***Cenni storici***

Nel 1966 Davis, Schaller e Wedgwood, descrissero due bambine dai capelli rossi e dalla carnagione chiara che presentavano una grave dermatite cronica, ascessi cutanei ed infezioni polmonari sostenute da *S. aureus* [1]. Fu in quella occasione che per la prima volta si parlò di Sindrome di Giobbe. Il nome fa chiaro riferimento al personaggio biblico dell'Antico Testamento, in cui si racconta la storia di Giobbe, uomo integro e retto, la cui fede in Dio viene messa alla prova da Satana che lo colpì con “pustole urenti dalla pianta dei piedi fino alla cima del capo”. Nel 1972 casi analoghi vennero descritti da Rebecca H. Buckley: fra i suoi pazienti erano presenti anche maschi dalla carnagione e dai capelli scuri in cui le infezioni ricorrenti erano sostenute non soltanto dallo stafilococco ma anche da altri microrganismi, in particolare *C. albicans*; in tale occasione vennero evidenziati livelli sierici di IgE molto elevati [2]. Per questo motivo prese il nome di Sindrome con Iper-IgE e infezioni ricorrenti. Solo negli ultimi anni si sono potute delineare le basi genetiche coinvolte nell'eziopatogenesi della Sindrome di Giobbe: nel 2006 venne identificata, in un bambino giapponese con livelli elevati di IgE nel siero, eczema ed infezioni ricorrenti, una delezione omozigote per il gene che codifica per la Proteina Tirosin Chinasi 2 (Tyk2) [3]. Questa scoperta aprì la strada per la scoperta del gene coinvolto nella AD-HIES: una mutazione dominante negativa a livello del gene STAT3 [4]. Infine, nel 2009, in un sottogruppo di pazienti con diagnosi di sindrome autosomica recessiva Iper-IgE, fu segnalata una mutazione sia di tipo omozigote che eterozigote del gene DOCK8 [5].

### ***Sindrome Iper-IgE autosomica dominante (AD-HIES)***

#### **Manifestazioni cliniche**

La sintomatologia è caratterizzata da frequenti infezioni cutanee e polmonari sostenute da *Staphylococcus aureus*, dermatite eczematosa e livelli elevati di IgE nel siero. In tarda infanzia/adolescenza emerge la facies tipica che caratterizza la sindrome: asimmetria del viso, occhi incavati, fronte e mento prominenti, naso a base allargata. Le manifestazioni cutanee esordiscono in epoca neonatale con un rash localizzato a livello del volto e/o del cuoio capelluto, è tipicamente costituito da papule che evolvono a pustole, successivamente può estendersi a tutto il corpo [6]. Dal punto di vista istopatologico le lesioni mostrano la presenza di dermatite eosinofila spongiosa, follicolite eosinofila e dermatite perivascolare ricca in eosinofili. Il rash può risolversi con terapia steroidea ed antibiotico terapia, oppure può persistere, evolvendo in una dermatite eczematosa che tipicamente si sovrainfetta con *Staphylococcus aureus*. Gli ascessi freddi sono caratteristici per l'assenza del rubor, tumor, dolor e calor tipici della risposta flogistica. Si localizzano in qualunque parte del corpo: possono coinvolgere la cute, ma anche gli organi interni. Per le loro caratteristiche non infiammatorie possono essere erroneamente interpretati come cisti o neoplasie cutanee, ma alla biopsia della lesione è costante il ritrovamento di pus e un aumentato numero di eosinofili. Il microrganismo isolato è sistematicamente lo *S. aureus*. Manifestazioni classiche sono le infezioni batteriche ricorrenti dei seni paranasali, dell'orecchio medio

e del parenchima polmonare. Il patogeno riscontrato più frequentemente nelle polmoniti è lo *Staphylococcus aureus*, seguito da *Streptococcus pneumoniae* ed *Haemophilus spp.* [7]. Le infezioni possono essere trattate con efficacia con l'uso di antimicrobici specificamente diretti contro i patogeni in causa. Si è però visto che in questi pazienti il parenchima polmonare va incontro a rigenerazione esuberante: in un elevato numero di pazienti (fino al 75% in alcune casistiche) il susseguirsi di infezioni e processi riparativi esuberanti esitano nella formazione di pneumatoceci e bronchi ectasie [8]. Le suddette alterazioni polmonari sono fonte di significativa morbilità e mortalità per i pazienti, in quanto rappresentano il terreno ideale di crescita per patogeni multiresistenti, dunque più difficili da trattare. Nella AD-HIES sono presenti peculiari manifestazioni coinvolgenti il tessuto connettivo, osseo e dentale. Alterazioni del cavo orale: palato ogivale, il rafe palatino e le rughe palatine appaiono alquanto prominenti e rilevate, così pure la depressione centrale della lingua. Per quanto riguarda la dentizione, a causa di un mancato riassorbimento della radice, i denti decidui tendono a non cadere [9]. Le irregolarità del massiccio facciale sono concausa importante dell'alta frequenza di infezioni a carico della mucosa dei seni paranasali e dell'orecchio medio. Tortuosità, dilatazioni, aneurismi e pseudoaneurismi, possono interessare vasi arteriosi e venosi di medio e piccolo calibro. I distretti coinvolti per maggiore frequenza sono il circolo coronarico e cerebrale, i vasi aortici e sovraortici [10]. Tra le manifestazioni intracraniche sono incluse le malformazioni di Arnold-Chiari tipo 1 e lesioni focali iperintense alla risonanza magnetica [11]. Tali lesioni tendono ad aumentare di numero con l'avanzare dell'età. Non sono associate a sintomatologia neurologica. È ancora da determinarne la loro natura: le ipotesi principali sono che si tratti di aree di demielinizzazione, d'infarti lacunari come conseguenza di anomalie vascolari simili a quelle presenti a livello coronarico, di infezioni subcliniche o di esiti da ridotta attività astrocitaria. Negli adulti è abbastanza frequente il reperto di una dismotilità esofagea. Meno comuni, ma presenti come in altri disordini del connettivo, sono invece, manifestazioni come diverticoli del colon, perforazione spontanea intestinale e prolasso rettale. Le patologie tumorali sono aumentate, con netta prevalenza dei linfomi. Quando diagnosticati precocemente, i linfomi sono stati trattati con protocolli standard di terapia con successo e senza morbilità significativa [12]. Altre patologie neoplastiche riportate includono leucemie, neoplasie vulvari, epatiche e polmonari.

#### Esami di laboratorio

IgE sieriche aumentate: sono almeno 10 volte il limite superiore normale per l'età e quindi dopo i 5-10 anni >2,000 UI/ml. Le IgE sono policlonali e rivolte contro svariati antigeni e allergeni. Nonostante i livelli di IgE e l'intensa positività dei skin prick test verso molti antigeni, c'è una paradossale assenza di manifestazioni cliniche da ipersensibilità di primo tipo (anafilassi, orticaria, angioedema, asma allergico). Questo paradosso è tipico della AD-HIES con mutazione di STAT3 ma non delle AR-HIES. I livelli di IgG, IgM e IgA sono nei range di normalità. L'eosinofilia è comune e non correla con i valori di IgE presenti nel siero. La conta linfocitaria è nella norma, ma sono nettamente diminuiti i linfociti T memoria, i linfociti B memoria e i linfociti Th17.

#### Genetica

Il gene STAT3 si trova sul cromosoma 17 nel locus q21.31. Il gene wild type ha 3 zone di splicing alternativo, che possono dare diverse varianti. I domini che costituiscono il gene sono: il dominio N-terminale, il dominio coiled-coil, il dominio DNA-binding, il dominio linker tra il dominio DNA-binding e il dominio SH2, il dominio SH2 (indispensabile per l'ancoraggio al recettore e quindi per la fosforilazione di STAT3 da parte di JAK associato al recettore) e il dominio di trans attivazione.

Le mutazioni si trovano principalmente nel dominio SH2, che media l'interazione tra proteina e proteina, e nel dominio di legame del DNA, che invece media l'interazione tra proteina e DNA. La maggior parte delle mutazioni sono missense, altre sono piccole delezioni in-frame [5-6]. Le mutazioni del gene STAT3 comportano modificazioni strutturali e funzionali della proteina con conseguente formazione di dimeri difettosi incapaci di legare il DNA, di fosforilare la tirosina 705, e/o di garantire il legame con recettori e con altre proteine.

### Patogenesi

La famiglia di proteine STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) è costituita da fattori di trascrizione che sono attivati in modo specifico per regolare la trascrizione genica quando le cellule entrano in rapporto con citochine o fattori di crescita: funzionano quindi come trasduttori di segnale nel citoplasma e come attivatori di trascrizione nel nucleo. Le citochine si legano ad un recettore transcellulare che non possiede attività enzimatica intrinseca, per cui, il dominio intracellulare interagisce con una proteina chinasi citosolica della famiglia janus (JAK) che fosforila il recettore stesso sui residui di tirosina. A questo punto il dominio SH2 (dominio di omologia a Src) di STAT è in grado di legarsi ai residui di tirosina fosforilati del recettore, in una posizione tale da venire anch'esso fosforilato da JAK in posizione Tyr 705. Il fattore di trascrizione STAT dimerizza e può spostarsi nel nucleo per attivare i geni bersaglio. Nei mammiferi, la famiglia delle STAT comprende sette proteine strutturalmente e funzionalmente correlate. Si tratta di proteine con funzione altamente specifica, tale caratteristica è dovuta sia all'interazione con un determinato recettore transcellulare che serve per la loro attivazione, sia per la loro capacità di legare il DNA in target genici altamente dedicati. La proteina STAT3 è indispensabile per l'embriogenesi, infatti il topo knockout per stat3 muore in fase embrionale [13]; invece i ceppi murini, con delezione selettiva di entrambi gli alleli in specifici tessuti, sono vitali ed esprimono un fenotipo simile a quello osservabile nella AD-HIES. Infatti in tali ceppi l'infezione da Adenovirus provoca danni molto gravi alle cellule dell'epitelio bronchiolare e alveolare che esitano nella formazione di pneumatoceli come avviene nella HIES; il deficit di STAT3 in osteoblasti e osteoclasti si evidenzia con osteopenia e fragilità ossea, manifestazioni comuni della HIES. STAT3 è un fattore di trascrizione delle vie di trasduzione del segnale di citochine pro infiammatorie (IL-6, IL11, IL-27, leukemia inhibitory factor, oncostatina M, ciliary neutrotrophic factor), citochine antinfiammatorie (IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24), diversi interferoni come IFN-gamma, IFN alfa/beta, ormoni, fattori di crescita come M-CSF, G-CSF. Questo ruolo centrale di STAT3 per l'espressione e per la risposta a segnali molto diversi è compromesso nei pazienti con AD-HIES.

- **Ascessi freddi:** IL-6 è cruciale nella regolazione dei linfociti Th 17, che sono significativi produttori di IL-17, una citochina proinfiammatoria coinvolta nella difesa dell'ospite dall'infezione di *S. aureus* e *C. albicans*. Nei pazienti con AD-HIES si osserva, rispetto ai controlli normali, grave deficit del numero di Th17 e di conseguenza dell'IL-17 prodotta. Essa agisce in vitro come potente stimolo infiammatorio. Induce l'espressione di citochine proinfiammatorie (IL-6, TNF- $\alpha$ , NOS-2, IL-1 $\beta$ , IL-8, MCP-1), agisce in sinergia con TNF, induce l'espressione di ligandi per chemochine (CXCL1, CXCL 2, CXCL5, CCL2 e CCL5), metalloproteasi di matrice (MMP3 e MMP13) e G-CSF da parte di fibroblasti, cellule endoteliali, macrofagi, osteoblasti e cellule epiteliali di topo. In particolare, grazie all'azione di CXCL2 e G-CSF, contribuisce al reclutamento di neutrofili; quindi l'assenza di IL-17, dovuto alla difettosa differenziazione cellulare dei linfociti verso la linea Th17, causato dal difetto funzionale della via di trasduzione IL-6/STAT3, si rende manifesta con la presenza dei caratteristici ascessi freddi della Sindrome di Giobbe.

- **Iper-IgE:** i precisi meccanismi che determinano i livelli elevati di IgE sieriche sono ancora sconosciuti; l'ipotesi principale resta quella della ridotta produzione di citochine ad effetto negativo sulla produzione di IgE. In condizioni normali la cellula TCD4 produce, oltre ad altre citochine, IL-4, IL21, IL-10 e IFN-gamma. La produzione di IFN-gamma e IL-10 è avviata dallo stimolo dell'IL-21. Sia l'IL-4 che l'IL-21 agiscono in sinergia nella differenziazione dei linfociti CD4 in senso Th2 [14]. La presenza combinata di IFN-gamma e IL-10, che inibiscono la produzione di IgE, e dall'altra parte la presenza di IL-4 e IL-21 che ne stimolano la produzione, permette un livello di immunoglobuline E sieriche basali normale. Nei pazienti con HIES, a causa della mutazione di STAT3, l'IL-21 non può stimolare, legandosi al TcR del linfocita TCD4, la produzione di IFN-gamma e IL-10. Di conseguenza il bilancio tra regolatori positivi e negativi viene meno: l'IL-4 stimola la cellula B naïve verso la produzione di IgE. Inoltre la via compromessa IL-10/STAT3 non permette la maturazione delle cellule dendritiche follicolari indispensabili per la regolare maturazione dei linfociti B nei centri germinali.
- **Suscettibilità alle infezioni da S. aureus:** il deficit di IL-6 e quello di linfociti Th17 comporta un deficit di richiamo dei neutrofili e dell'attivazione della NO-sintetasi. Particolarmente suscettibili a questo deficit sono le cellule dell'epitelio bronchiale e della cute [15].
- **Paradossale assenza di manifestazioni atopiche (anafilassi, asma) in soggetti con elevati livelli di IgE:** STAT3 gioca un ruolo chiave nell'attivazione delle mast cells. STAT3 è necessario per la proliferazione e la funzione dei mastociti, infatti topi con cellule dell'epitelio respiratorio stat3null non sviluppano asma allergica. Di regola le IgE si legano con il frammento Fc a basofili e mastociti rimanendo esposte all'ambiente extracellulare con la frazione Fab. Quando le IgE (2 molecole) vengono a contatto con l'allergene si verifica la degranulazione cellulare con liberazione dei mediatori allergici. Nella HIES, pur essendoci IgE dirette verso antigeni non specifici, la carenza di STAT3 rende impossibile la degranulazione cellulare.

### Diagnosi

Storicamente, prima che fossero individuati i geni responsabili, la diagnosi si basava sullo score diagnostico secondo Grimbacher [16] che prende in considerazione parametri clinici e di laboratorio (Tabella 1). In base allo score si definisce un paziente: affetto da HIES se score >60; probabilità alta di essere affetto se score 40-59; probabilità bassa di essere affetto se score 16-39; non affetto se score 0-15. Di recente sono state proposte nuove linee guida per la diagnosi da Woellner et al. [17]. I criteri clinici sono stati ridotti a cinque (polmoniti ricorrenti, rash neonatale, fratture ossee patologiche, facies caratteristica, palato ogivale) ed è stato introdotto nello score diagnostico la conta dei linfociti Th17. HIES possibile: IgE>1,000 IU/mL e score clinico >30; HIES probabile: IgE>1,000 IU/mL, score clinico >30, linfociti Th17 diminuiti o anamnesi familiare positiva per HIES; HIES definitiva: IgE>1,000 IU/mL, score clinico >30, linfociti Th17 diminuiti o anamnesi familiare positiva per HIES, mutazione di STAT3.

### Terapia

Il trattamento della AD-HIES è esclusivamente sintomatico e si basa essenzialmente sulla profilassi antibiotica, principalmente diretta verso lo *Staphylococcus aureus* che permette un miglior controllo delle infezioni polmonari e della dermatite. Grazie alla riduzione delle polmoniti, infatti, si preven- gono le lesioni polmonari poststafilococciche ovvero la formazione di pneumatoceci.

La profilassi/terapia di base consiste in: antibiotici ed antimicotici in profilassi quotidiana fissa. Idealmente sarebbe consigliato eseguire regolarmente tamponi e colture per avere sempre un quadro aggiornato dei microrganismi presenti nella cute, nel naso, nel faringe, e nell'espettorato dei pazienti: nella pratica clinica tuttavia, questo si scontra con la compliance non ottimale dei pazienti.

Inoltre possono aiutare nel controllo della sintomatologia: antistaminici per il prurito; bagni quotidiani con soluzione disinfettante anti-Stafilococchi (Ipoclorito di sodio 1.15 g/100 mL). Data la situazione di immunodepressione i pazienti non beneficiano dell'uso di corticosteroidi sia topici che sistemici per il controllo della dermatite. Sono riportati due casi in cui in due pazienti in cui l'utilizzo dell'Omalizumab, anticorpo monoclonale anti-IgE, è risultato efficace nel trattamento della dermatite [18-19] e ha permesso il controllo della sintomatologia cutanea.

## Caso clinico

### *Introduzione clinico-laboratoristica*

Descriviamo il caso di X.Y., maschio di 17 anni, affetto da sindrome Iper-IgE, diagnosticata all'età di 13 mesi, attualmente ancora seguito presso la Clinica Pediatrica della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia. Fin dal primo mese di vita il paziente ha presentato numerosi episodi infettivi. A meno di un mese dalla nascita X.Y. è stato ricoverato presso il Policlinico San Matteo di Pavia a seguito di un episodio di sepsi presentatosi come episodio flogistico delle vie aeree; alle emocolture era stato isolato lo *S. aureus*; inoltre era stata riscontrata candidiasi orale diagnosticata su base clinica e confermata dal tampone faringeo. In tale occasione, a seguito di una terapia antibiotica mirata e della risoluzione della sintomatologia, il paziente X.Y. è stato sottoposto ad esami di laboratorio al fine di valutarne le competenze immunologiche: è emerso un costante difetto microbicida verso lo *Staphylococcus* e lo *Streptococcus* associato al difetto della via alterna del complemento e a un valore alterato di IgE rispetto ai range di normalità. Le alterazioni appaiono costanti e in modo indipendente da eventuali sovrainfezioni. Data la presenza della positività clinica e delle alterazioni laboratoristiche, secondo i criteri diagnostici utilizzati fino al 1999 (non ancora utilizzato lo score clinico della NIH) è stata posta diagnosi di Sindrome Iper-IgE. All'età di 13 mesi a causa di una grave dispnea con iperpiressia X.Y. viene ricoverato presso l'Ospedale Maggiore di Milano. Viene diagnosticata una pneumopatia bollosa ipertensiva del lobo superiore destro poststafilococcica. Sono stati posti drenaggi toracici, ma senza risultati. Il quadro si complica per la presenza di emottisi, iperpiressia di difficile controllo e dispnea ingravescente. Quindi X.Y. viene trasferito presso la Patologia Chirurgica Pediatrica dove si rendono necessari due interventi chirurgici di lobectomia polmonare. Riscontrata anche durante questo ricovero candidiasi del cavo orale. Gli episodi infettivi proseguono principalmente con infezioni a carico delle alte vie respiratorie, pneumopatia bollosa (a 9 anni terzo intervento di lobectomia polmonare), otiti ricorrenti e candidiasi orale. Conseguenza degli interventi sul parenchima polmonare è una sindrome disventilatoria restrittiva associata a componente ostruttiva di grave entità. Gli esami immunologici all'età di 2 anni e 10 mesi evidenziano valori di IgE di 1537.50 U.I./MI contro valori massimi normali di 80.00 U.I./MI. Gli esami ripetuti a distanza di due anni mostrarono valori di IgE ancora elevati con valori di 1786.20 U.I./MI (Tabella 2). Durante l'infanzia il paziente ha, inoltre, presentato importante suscettibilità a fratture ossee in seguito a traumi di lieve entità che hanno richiesto correzione ortopedica: a 5 anni tassement epifisi distale radio-ulna destra; a 14 anni e 3 mesi frattura del braccio destro. X.Y. ha inoltre presentato diversi quadri di linfadenite suppurativa e raccolte ascessuali superficiali, trattate con drenaggio chirurgico. Gli esami ematologici ripetuti durante gli ingressi presso la nostra Clinica dovuti agli episodi infettivi o durante le scadenze fissate per controllo, hanno continuato a mostrare valori estremamente elevati di IgE e mancata stimolazione anticorpale nei confronti dei principali batteri pirogegni. La cronicità della patologia e il susseguirsi di recidive di episodi infettivi debilitanti hanno portato a ridurre la compliance di X.Y. verso la terapia e verso i controlli a scadenze programmate.

A marzo 2011 X.Y. giunge presso il Pronto Soccorso del nostro Policlinico per episodio di anafilassi. Dopo assunzione di torta contenente tracce di pinoli riferita comparsa di dispnea e sensazione di costrizione laringea per cui assume Tinset, ma senza beneficio; X.Y. in seguito a comparsa di vomito e rash cutaneo localizzato al volto ed al collo si reca in Pronto Soccorso. In PS è stata instaurata aerosol-terapia con Clenil e salbutamolo alla quale non è seguito miglioramento della sintomatologia per cui è stata somministrata terapia cortisonica ev; segue un secondo episodio con dispnea, broncospasmo ed ipotensione arteriosa per cui è stata necessaria nuova terapia cortisonica. Si eseguono: Rx torace che mostra marcata sovraelevazione dell'emidiaframma destro con occlusione del seno costo frenico e retrazione dell'emitorace da esito dei pregressi interventi toracotomici ed a dimorfismo toracico congenito. Emocromo: riscontro di leucopenia con eosinofili ai limiti superiori di norma ed ipokaliemia. Dimissione con indicazione di visita allergologica e valutazione della funzionalità respiratoria.

Un mese dopo l'episodio di anafilassi bifasica X.Y. giunge presso il nostro ambulatorio per inquadramento immuno-allergologico. Il paziente riferisce pregressi episodi di dispnea dopo assunzione di pinoli e anacardi, mentre sindrome orticaria angioedema dopo ingestione di noce, nocciola, pesca, arachidi e pistacchi. Assume senza sintomatologia mandorle, sesamo e restante frutta secca. Prestazioni eseguite: Skin Prick Test per inalanti e alimenti, prelievo venoso per immunoCAP e immunoCAP ISAC (Tabella 3), IgG IgA IgM e sottoclassi IgG, funzionalità epato-renale, profilo lipidico, metabolismo osseo, elettroforesi siero proteica, test di broncodilatazione farmacologica con salbutamolo, analisi genetica; esegue anche ecocardiogramma: cardiomeccanica nella norma. Velocità coronariche di arteria circonflessa ed interventricolare anteriore nella norma.

### **Genetica**

Il DNA del paziente è stato estratto da un suo campione di sangue utilizzando il QIAamp DNA Blood Mini Kit fornito dalla ditta Qiagen. Successivamente è seguita la quantificazione del DNA al nanodrop. Grazie alla PCR (Polymerase Chain Reaction o reazione a catena della polimerasi), tecnica utilizzata per amplificare in modo selettivo una sequenza bersaglio di DNA. Tale tecnica sfrutta la capacità delle polimerasi di catalizzare la sintesi di acidi nucleici a partire da un filamento stampo. Per poter realizzare un esperimento di PCR è necessario conoscere la sequenza da amplificare ed avere a disposizione: i dNTP, ossia i deossinucleotidi trifosfato, i primer (le sequenze complementari agli estremi della sequenza da amplificare), l'enzima Taq-polimerasi (polimerasi estratta da un batterio termofilo, in grado di non denaturarsi ad alte temperature), il magnesio cloruro (MgCl<sub>2</sub>) e un buffer specifico per la Taq-polimerasi. Per il nostro studio sono stati disegnati primer specifici in grado di amplificare i 23 esoni del gene STAT3. Il sequenziamento dei prodotti di PCR ottenuti è stato eseguito utilizzando un sequenziatore automatico della ditta PE Applied Biosystem, che si basa sul metodo di Sanger. Per il confronto tra dati ottenuti dal sequenziamento di STAT3 e quelli già noti, sono state utilizzate anche dati online come per esempio UCSC genome browser (<http://genome.ucsc.edu/>).

L'analisi dei ventitré esoni codificanti del gene STAT3 ha evidenziato una mutazione missenso in eterozigosi a livello dell'esone 19 del gene:

- NM\_139276.2:c.1699A>G (a livello del cDNA);
- Chr17(GRCh37):g.40475327T>C (a livello genomico);
- p.Asn567Asp (a livello proteico).

### **Fenotipo**

Per determinare l'effetto di mutazioni di STAT sono state generate DC a partire da monociti CD14+ isolati dal sangue periferico del paziente e di due controlli sani mediante stimolazione con IL-4 e GM-CSF in presenza o assenza di IL-10. Le cellule sono state successivamente fatte maturare in presenza di LPS. I risultati dimostrano che la stimolazione con LPS delle DC induce la perdita dell'espressione

del CD14 e l'alta espressione di CD1, CD80 e CD86 sia nelle cellule DC del paziente che dei due controlli. L'aggiunta di IL-10 modifica solo leggermente i livelli di maturazione delle DC del paziente, infatti rimane il 12% di espressione di CD14, mentre non cambia l'espressione di CD1 e CD80. Nei due controlli, al contrario le DC coltivate in presenza di IL-10 mostrano bassi livelli di maturazione, con una notevole espressione di CD14 e riduzione dell'acquisizione del CD1. Inoltre risultano diminuiti i livelli di espressione di CD80 e CD86: 95%. È stato valutato il fenotipo di membrana delle cellule mononucleate del sangue periferico del paziente e di due controlli sani per quanto riguarda l'espressione delle popolazioni T e del compartimento delle cellule della memoria. Il compartimento delle cellule della memoria comprende quattro diverse sottopopolazioni cellulari identificate dalla presenza/assenza di particolari antigeni sulla superficie cellulare. Si identificano cellule NAIVE, TEM (effettori della memoria), TEMRA (effettori della memoria terminali) e TCM (cellule della memoria). I risultati dimostrano che le popolazioni di linfociti CD4+ e CD8+ sono normalmente rappresentate nel paziente, mentre nell'ambito della popolazione CD4+ risulta un'alta frequenza di linfociti con fenotipo naive (75%) rispetto a quello osservato nei controlli sani. Anche le cellule della memoria risultano ridotti rispetto a quanto osservato nei controlli.

## Discussione

La sindrome autosomica dominante da iper IgE è una rara immunodeficienza primaria caratterizzata da una triade di segni clinici tra cui elevati livelli di IgE nel siero (>2,000 IU/ml), ascessi cutanei ricorrenti da Stafilococco, e polmonite ricorrente, con formazione di pneumatoceli. L'incidenza annuale è stimata intorno a 1:1 milione con circa 250 casi segnalati fino ad oggi. La forma AD di solito si presenta con un'eruzione cutanea presente già in epoca neonatale. Tuttavia, il fulcro della patologia è l'interessamento del sistema immunitario, del tessuto connettivo, dello sviluppo scheletrico e dentale, con variazioni di gravità dei sintomi. Eczema, ascessi cutanei ricorrenti, polmonite con formazione di pneumatocele, candidosi mucocutanea, elevato nel siero IgE ed eosinofilia sono le manifestazioni più comuni di immunodeficienza e disregolazione immunitaria. La facies caratteristica è stata descritta (asimmetria facciale, fronte prominente, occhi infossati, ampio ponte nasale e punta del naso carnosa), e anomalie della linea mediana possono essere osservate. Fratture patologiche ripetute sono spesso prova del coinvolgimento multi sistemico della patologia e sono soprattutto a carico delle ossa lunghe e delle costole, piuttosto che della colonna vertebrale. Una diminuzione nel riassorbimento radicolare dei denti può provocare ritenzione prolungata dei denti decidui, impedendo lo sviluppo dei denti permanenti.

Nel 1999, un sistema di punteggio clinico è stato definito dal National Institutes of Health. Questo sistema è utilizzato nella valutazione di questi pazienti e rimane l'approccio diagnostico più utilizzato. Dalla scoperta che mutazioni nel gene STAT3 fossero responsabili della malattia nel 70% dei pazienti, è indicato il sequenziamento di questo gene. La diagnosi differenziale include la fibrosi cistica e malattia granulomatosa cronica, oltre a gravi forme di dermatite atopica ed all'infezione da HIV. La somministrazione di profilassi antibiotica anti-stafilococco, e la disinfezione della pelle, sono il cardine del trattamento. Anche se la patologia è associata a significativa morbidità e mortalità, i progressi nelle cure mediche, un attento monitoraggio e una buona compliance del paziente ha portato ad una prognosi migliore.

L'analisi dei ventitré esoni codificanti del gene STAT3 (17q21.2, chr17:40,465,343-40,540,513 pb, hg19, trascritto NM\_139276.2) ha evidenziato una mutazione missenso in eterozigosi a livello dell'esone 19 del gene (NM\_139276.2:c.1699A>G (a livello del cDNA); Chr17(GRCh37):g.40475327T>C (a livello genomico); p.Asn567Asp (a livello proteico).



L'estensione dell'analisi dell'esone 19 ai genitori del probando, ha evidenziato che la mutazione evidenziata in eterozigosi non è presente nei genitori che sono invece portatori in omozigosi della variante wild-type. Secondo i database di predizione disponibili (Alamut e Mutation Taster), la mutazione in eterozigosi de novo identificata a livello dell'esone 19 del gene STAT3 potrebbe essere potenzialmente causativa di patologia. Ad oggi tale mutazione non è mai stata identificata in altri pazienti con fenotipo sovrapponibile a quello del nostro paziente.

Esiste in letteratura la nozione di un rischio aumentato nei pazienti affetti da Sindrome di Giobbe di reazioni anafilattiche gravi, fino allo shock, associate all'assunzione di alcuni alimenti, soprattutto a frutta secca. Tuttavia, da una ricerca bibliografica, risulta difficile risalire ad un caso clinico investigato e francamente associato alla Sindrome da Iper-IgE. Il nostro paziente ha presentato una marcata positività alle proteine di trasporto lipidico, il che conferma anche gli episodi di orticaria da lui riferiti in concomitanza con l'assunzione di frutta quale pesca e mele. Il sospetto principale è che X.Y. soffra di una sindrome legata alle LTP (nPrp p 3, rCor a 8, nArt v 6) e che quindi la positività delle IgE totali alle arachidi sia legata a una sensibilizzazione e ad una allergia al ricombinante rAra h9. Risulta quindi utile una analisi attraverso prick by prick degli alimenti contenenti proteine di trasporto lipidico e della frutta secca che cross-reagisce con l'arachide, fra cui soprattutto pinoli e noce di Cajou. Un'accurata valutazione del complesso profilo allergologico del paziente sarà quindi necessaria per evitare una nuova esposizione ad allergeni cui non solo è sensibilizzato, ma anche allergico, vista la gravità da lui presentata in occasione della prima reazione.

Nel nostro paziente, in cui abbiamo dunque evidenziato una nuova mutazione che causa la patologia, lo step successivo, sarà quello di provare tramite un apposito test di provocazione orale il nesso di causalità fra l'alimento e la reazione riportata, sottolineando finalmente il rischio, in pazienti con Sindrome di Giobbe, di gravi reazioni anafilattiche.

## Tabelle e figure

Tabella 1. Score diagnostico della HIES secondo Grimbacher.

Parametro clinico	Punteggio									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Max IgE (UI/mL)	<200	200-500			501-1,000				1,001-2,000	>2,000
Ascessi cute (n° totale)	0		1-2		3-4				>4	
Pneumoniti (n° totale, documentate Rx)	0		1		2		3		>3	
Alterazioni del parenchima polmonare	NO						Bronchiectasie		Pneumatocele	
Altre infezioni gravi	NO				SI					
Sepsi	NO				SI					
Max conta eosinofili/ $\mu$ L	<700			700-800						
Rash neonatale	NO				SI					
Eczema(stadio peggiore)	Assente	Lieve	Moderato		Grave					
Sinusiti, otiti (n° totale max in un anno)	1-2	3	4-6		>6					
Candidosi	NO	Orale, Vaginale	Unghie		Sistemica					
Denti decidui ritenuti	0	1	2		3					
Scoliosi, max curvatura	<10°		10°-14°		15°-20°					
Fratture spontanee	0				1-2					
Iperlassità legamentosa	NO				SI					
Facies tipica	NO		Lieve			SI				
Aumentata larghezza nasale	<1 SD	1-2 SD		>2 SD						
Palato ogivale	NO		SI							
Anomalie linea mediana	NO					SI				
Linfoma	NO				SI					
Correzione per l'età	>5 anni			2-5 anni		1-2		<1		

**Tabella 2. IgE sieriche.**

Età	IgE (UI/ml)	Range di normalità
13 mesi	199	<20
3 anni	1537	<80
5 anni	17862	<100
9 anni	14560	<100
18 anni	21138	<120
20 anni	19714	<120

**Tabella 3. Accertamenti allergologici.**

	Skin Prick Test	ImmunoCAP®	ImmunoCAP®ISAC
Controllo positivo	4 mm		
Controllo negativo	0 mm		
Arachide	3 mm	24.9 kU/l	rArah (1-3)=<0.3 ISU rArah 8=0.49 ISU rArah 9=38.5 ISU
Pinolo	3 mm	14.7 kU/l	
Noce	11 mm	95.9 kU/l	
Nocciola	8 mm	24.7 kU/l	rCor a 8=18 ISU
Kiwi	5 mm		nAct d 1=5.2 ISU
Pesca			nPru p 3=38 ISU

### Bibliografia

- Davis A, Schaller J, Wedgwood RJ. Job's Syndrome. Recurrent, "cold", staphylococcal abscesses. *Lancet* 1966;1(7445):1013-1015.
- Buckley RH, Wray BB, Belmaker EZ. Extreme hyperimmunoglobulinemia E and undue susceptibility to infection. *Pediatrics* 1972;49(1):59-70.
- Minegishi Y. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity. *Immunity* 2006;25(5):745-755.
- Renner ED. STAT3 mutation in the original patient with Job's syndrome. *N Engl J Med* 2007;357(16):1667-1668.
- Engelhardt KR. Large deletions and point mutations involving the dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) in the autosomal-recessive form of hyper-IgE syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(6):1289-1302.
- Eberting CL. Dermatitis and the newborn rash of hyper-IgE syndrome. *Arch Dermatol* 2004;140(9):1119-1125.
- Grimbacher B. Hyper-IgE syndrome with recurrent infections an autosomal dominant multisystem disorder. *N Engl J Med* 1999;340(9):692-702.
- Zhang Q, Su HC. Hyperimmunoglobulin E syndromes in pediatrics. *Curr Opin Pediatr* 2011;23(6):653-658.
- Domingo DL. Novel intraoral phenotypes in hyperimmunoglobulin-E syndrome. *Oral Dis* 2008;14(1):73-81.
- Ling JC. Coronary artery aneurysms in patients with hyper IgE recurrent infection syndrome. *Clin Immunol* 2007;122(3):255-258.
- Freeman AF. Brain abnormalities in patients with hyperimmunoglobulin E syndrome. *Pediatrics* 2007;119(5):e1121-e1125.
- Leonard GD. Non-Hodgkin's lymphoma in Job's syndrome: a case report and literature review. *Leuk Lymphoma* 2004;45(12):2521-2525.
- Takeda K. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(8):3801-3804.
- Ettinger R, Kuchen S, Lipsky PE. The role of IL-21 in regulating B-cell function in health and disease. *Immunol Rev* 2008;223:60-86.

15. Minegishi Y. Hyper-IgE syndrome. *Curr Opin Immunol* 2009;21(5):487-492.
16. Grimbacher B. Genetic linkage of hyper-IgE syndrome to chromosome 4. *Am J Hum Genet* 1999;65(3):735-744.
17. Woellner C. Mutations in STAT3 and diagnostic guidelines for hyper-IgE syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2):424-432.
18. Bard S. Eczematous dermatitis in the setting of hyper-IgE syndrome successfully treated with omalizumab. *Arch Dermatol* 2008;144(12):1662-1663.
19. Chularojanamontri L. Role of omalizumab in a patient with hyper-IgE syndrome and review dermatologic manifestations. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2009;27(4):233-236.