

## Paper of the month, Juni 2017

### Immunological phenotype of the murine *Lrba* knockout

Laura Gámez-Díaz, Julika Neumann, Fiona Jäger, Michele Proietti, Felicitas Felber, Pauline Soulas-Sprauel, Lisa Perruzza, Fabio Grassi, Tamara Kögl, Peter Aichele, Manfred Kilimann, Bodo Grimbacher, Sophie Jung.

Immunology and Cell Biology accepted article preview 27 June 2017; doi: 10.1038/icb.2017.52.

---

Der LRBA (Lipopolysaccharide Responsive Beige-like Anchor protein) Mangel ist ein primärer Immundefekt, der auf einer verminderten Expression des LRBA-Proteins aufgrund von biallelischen Mutationen im *LRBA*-Gen beruht. Der LRBA-Mangel äußert sich klinisch vielfältig, beispielsweise durch Autoimmunität, entzündlichen Darmerkrankungen, Hypogammaglobulinämie der Antikörper IgG, IgM und/oder IgA, rezidivierenden Infektionen und Organomegalien, wie Splenomegalie, Hepatomegalie und Lymphadenopathie. Die Erkrankung tritt im Mittel im Alter von 13 Jahren in Erscheinung und wird mit steigendem Alter schwerwiegender. Die Betroffenen weisen verschiedene immunologische Defekte auf, die sowohl die B-Zellreihe mit verminderten Zahlen von Gedächtnis- und Plasmazellen, sowie die T-Zellreihe mit einer Beeinträchtigung der regulatorischen T-Zellen ( $T_{regs}$ ) betreffen. Auch nach Impfungen sind im Vergleich zur Normalbevölkerung weniger spezifische Antikörper im Blut von Patienten nachweisbar.

Die *LRBA*-Gene des Menschen und der Maus weisen eine Sequenzhomologie von 90% auf. Daher nutzte die Forschungsgruppe ein Knockout Mausmodell mit gezielter Loss-of-Protein Deletion zur Nachstellung des genetischen Defekts im LRBA-Gen. Mithilfe dieses Mausmodells (*Lrba*<sup>-/-</sup>) konnten *in vivo* Untersuchungen zur Lymphozytenentwicklung und Antikörperantwort im unbeeinflussten Zustand, nach Immunisierung mit T-Zell-abhängigen und T-Zell-unabhängigen Antigenen, sowie in der akuten Infektion mit lymphozytärem Choriomeningitis Virus (LCMV) oder *Salmonella Typhimurium* durchgeführt werden. Aufgrund der ansteigenden Schwere der Erkrankung im Alter wurden die Mäuse in die Gruppen jung (<4 Monate alt) und alt (>1 Jahr alt) unterteilt. Die *Lrba*<sup>-/-</sup> Mäuse zeigten jedoch weder im unbeeinflussten Zustand noch bei einer Herausforderung durch Antigene deutliche Symptome, die bei Menschen mit LRBA-Mangel typisch sind.

Die Forscher stellten eine Entbehrlichkeit des LRBA-Proteins für die T- und B-Zell-Entwicklung, das B-Zell-Überleben und den Klassenwechsel bei Mäusen fest. Die Immunglobulinkonzentrationen von IgG und IgM im Serum wiesen normale Werte auf. Jedoch zeigten *Lrba*<sup>-/-</sup> Mäuse eine verminderte Expression von CTLA-4, einem negativen Regulator der T-Zell-Aktivität von  $T_{regs}$ -Zellen. Eine niedrige Expression von CTLA-4 steht im Zusammenhang mit der Entwicklung von Autoimmunität bei Patienten mit LRBA-Mangel. Außerdem ist die Anzahl peritonealer B-1a-Zellen reduziert, was zu einer Verminderung der IL-10-Produktion führt. Besonders fielen erhöhte IgA-Werte auf, die interessanterweise mit dem Alter der Mäuse weiter anstiegen, was auf eine modulierende Rolle des LRBA-Proteins auf die IgA Produktion schließen lassen könnte. Trotzdem zeigten die *Lrba*<sup>-/-</sup> Mäuse keine erhöhte Anfälligkeit für Darminfektionen, obwohl vermehrt folliculäre T-Helferzellen in den Peyer Plaques, CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten im intestinalen Epithel des Kolons und eine erhöhte Zellularität mit höherer pathogener Kolonisation in mesenterialen Lymphknoten nach Infektion mit *Salmonella Typhimurium* festgestellt wurden. Damit zeigten sich Morbidität und Mortalität während der akuten Kolitis nicht erhöht. Auch nach Impfung mit T-Zell-abhängigen und T-Zell-unabhängigen Antigenen kam es zu keinem Defekt in der Antikörperantwort. Insgesamt deuten die Ergebnisse auf eine wichtige Rolle des LRBA-Proteins in der IgA Produktion und/oder Regulation hin, die für die Erhaltung der intestinalen Homöostase von Bedeutung ist.

Da es sich bei dem LRBA-Mangel um eine lebensbedrohliche Erkrankung handelt, die bisher nur unspezifisch behandelt werden kann, zeigen die Forscher hiermit, wie wichtig Studien wie diese zum Verständnis der Pathogenese der Erkrankung sind, um in Zukunft spezifische Therapieoptionen anbieten zu können.

## Paper of the month, June 2017

### Immunological phenotype of the murine *Lrba* knockout

Laura Gámez-Díaz, Julika Neumann, Fiona Jäger, Michele Proietti, Felicitas Felber, Pauline Soulas-Sprauel, Lisa Perruzza, Fabio Grassi, Tamara Kögl, Peter Aichele, Manfred Kilimann, Bodo Grimbacher, Sophie Jung.

Immunology and Cell Biology accepted article preview 27 June 2017; doi: 10.1038/icb.2017.52.

---

LRBA (Lipopolysaccharide Responsive Beige-like Anchor protein) deficiency is a primary immunodeficiency caused by reduced expression of the LRBA protein due to biallelic mutations in the *LRBA* gene. Clinically, LRBA deficiency manifests with a wide spectrum of symptoms including autoimmunity, inflammatory bowel-disease, IgG, IgM and/or IgA hypogammaglobulinemia, recurrent infections and organomegaly, such as splenomegaly, hepatomegaly and lymphadenopathy. The disease appears at an average age of 13 years and becomes more severe with increasing age. Patients show different immunological defects affecting the B-cell-line with reduced memory cells and plasmablasts, and the T-cell-line, mainly disturbing the functionality of regulatory T-cells ( $T_{regs}$ ). After vaccination, less specific antibodies are detectable in the serum of LRBA-deficient patients.

Human and murine *LRBA* genes show about 90% sequence homology. Therefore, the researchers used an *Lrba* knock-out mouse model (*Lrba*<sup>-/-</sup>) with a loss-of-protein targeted deletion to mimic the genetic defect observed in LRBA-deficient patients. This mouse model (*Lrba*<sup>-/-</sup>) was used to investigate *in vivo* lymphocytes' development and antibody responses at steady state, after immunization with T-dependent and T-independent antigens, as well as in the context of acute infections with lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) and *Salmonella Typhimurium*. Due to the increasing severity of the human disease with the age of the patients, mice were divided into two age groups: young mice (<4 months old) and old mice (>1 year old). However, *Lrba*<sup>-/-</sup> mice did not show any obvious disease symptoms that are typical in human LRBA deficiency, either at steady state or after antigenic challenge.

In addition, the researchers discovered the dispensability of LRBA protein for T- and B-cell development, B-cell survival and class switching in mice. The immunoglobulin IgG and IgM serum levels were also found normal. However, *Lrba*<sup>-/-</sup> mice had decreased expression of CTLA-4, a negative regulator of T-cell activity in  $T_{regs}$  cells. Low CTLA-4 is associated with the development of autoimmunity in LRBA-deficient patients. Furthermore, the number of peritoneal B-1a-cells was reduced in *Lrba*<sup>-/-</sup> mice being associated with diminished IL-10 production. Particularly, high serum and secretory IgA levels were noticed in *Lrba*<sup>-/-</sup> mice. Interestingly, IgA levels increased along with the age of the mice, suggesting a modulating role of LRBA on IgA production. However, *Lrba*<sup>-/-</sup> mice did not show increased susceptibility to intestinal infections or overt signs of inflammation and autoimmunity, although the authors observed an increased frequency of T follicular helper cells in Peyer's patches, CD3<sup>+</sup> lymphocytes in the colonic intestinal epithelium and increased cellularity along with higher pathogen colonization in mesenteric lymph nodes after infection with *Salmonella Typhimurium*. Thereby, morbidity and mortality during acute colitis were not increased. Even after vaccination with T-dependent and T-independent antigens no defect in antibody response was detected.

In conclusion, the results indicate an important role of the LRBA protein in immune regulatory mechanisms and suggest a novel role of LRBA in IgA production and/or regulation, which is important for intestinal homeostasis. Since LRBA deficiency is a life-threatening disease, which can only be treated unspecifically, the researchers emphasize the need for additional studies allowing a better understanding of disease pathogenesis in order to be able to offer specific therapy options in the future.

---

**Comment by:** Jessica Ritter, Ritter.jessica@campus.lmu.de