

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

**Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
bei Kindern und Jugendlichen:
von molekularen Mechanismen zu therapeutischen Ansätzen**



Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia Legendi
im Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt von
Dr. med. Tobias Schwerd
München 2019

Fachmentorat

Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

Prof. Dr. med. Sibylle Koletzko

PD Dr. med. David Anz

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung in das Thema	4
1.1	Hintergrund chronisch entzündliche Darmerkrankungen in der Pädiatrie	4
1.2	Zielsetzung	7
2	Teilprojekte und Bedeutung der Arbeiten für das Fachgebiet.....	8
2.1	Monogenetische CED und weitere primäre Immundefekte als Modellerkrankungen für das Verständnis des mukosalen Immunsystems	8
2.1.1	Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease.	8
2.1.2	NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease.	10
2.1.3	A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis.....	12
2.1.4	A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome.	13
2.2	Diagnostischer Algorithmus zur Identifikation monogenetischer Formen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung	14
2.3	Exklusive Ernährungstherapie (EET) bei pädiatrischem Morbus Crohn: Klinische Effektivität und Wirkmechanismen.....	17
2.3.1	Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome.	17
2.3.2	Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation.....	19
3	Resümee und Ausblick.....	21
4	Literaturverzeichnis.....	23
5	Abkürzungsverzeichnis	30
6	Vollständiges Schriftenverzeichnis	31
6.1	Originalarbeiten als Erstautor.....	31
6.2	Originalarbeiten als Koautor	31
6.3	Übersichtsartikel.....	33
7	Originalarbeiten der kumulativen Habilitationsschrift.....	34

1 Einführung in das Thema

1.1 Hintergrund chronisch entzündliche Darmerkrankungen in der Pädiatrie

Schubweise rezidivierende oder kontinuierlich auftretende, entzündliche Veränderungen des Darms werden unter dem Sammelbegriff chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED; engl. *inflammatory bowel disease*, IBD) zusammenfasst. Morbus Crohn (MC) und Colitis ulzerosa (CU) sind die beiden am besten definierten Entitäten einer CED (Schwerd und Koletzko, 2017).

Epidemiologie pädiatrischer CED

Weltweit wird seit mehreren Jahrzehnten eine Zunahme der Inzidenz und Prävalenz der CED beobachtet (Kaplan, 2015; Ng et al., 2018). Von diesem Anstieg ist die Gruppe der Kinder und Jugendlichen überproportional stark betroffen und es werden insbesondere mehr Patienten im Alter von <10 Jahren beobachtet (Benchimol et al., 2014; Carroll et al., 2019). In Deutschland leben ca. 600.000 Menschen mit einer CED und jeder fünfte Patient wurde im Kindes- oder Jugendalter diagnostiziert, meist im Alter von über 7 Jahren (Buderus et al., 2015). Jüngste Auswertungen von Versichertendaten einer großen Krankenkasse bestätigen die Zunahme pädiatrischer CED-Fälle zwischen 2009-2013 in Deutschland (Wittig et al., 2019). Die Inzidenz und Prävalenz der pädiatrische CED <18 Jahre wurde von Wittig und Kollegen mit 17,41/100.000 und 66,29/100.000 Kinder und Jugendliche errechnet (Wittig et al., 2019).

Besonderheiten der pädiatrischen CED

Wird eine CED bereits im Kindes- oder Jugendalter diagnostiziert ist der Befall im Vergleich zu erwachsenen Patienten häufig ausgedehnter und die Erkrankung aktiver (Israeli et al., 2014; Van Limbergen et al., 2008). Beim MC ist häufig der obere Gastrointestinaltrakt (GIT) mitbetroffen und der Dünndarm kann langstreckig befallen sein (Vernier-Massouille et al., 2008). Bei der CU wird häufiger ein ausgedehnter Befall des Kolons beobachtet, welcher mit einem akuten und schweren Verlauf assoziiert sein kann und zu höheren Kolektomieraten im Kindesalter führt (Aloi et al., 2013; Gower-Rousseau et al., 2009; Van Limbergen et al., 2008). Da Wachstum und Entwicklung zum Zeitpunkt der Diagnose nicht abgeschlossen sind, betreffen viele Komplikationen ausschließlich pädiatrische Patienten. Hierzu zählen sekundärer Kleinwuchs, verzögerte Pubertätsentwicklung oder eine verminderte Knochendichte (Sanderson, 2014; Werkstetter et al., 2011). Der Umstand, dass das Alter bei Diagnose den Phänotyp, den Verlauf und das therapeutische Ansprechen beeinflusst, wird auch in den CED-Klassifikationen Rechnung getragen. Die Montreal Klassifikation führte erstmals eine pädiatrische Untergruppe für Patienten <17 Jahre ein (*pediatric-onset IBD*) und die pädiatrische Paris Klassifikation unterscheidet nochmals Patienten <10 Jahren (*early-onset IBD*) (Levine et al., 2011; Silverberg et al., 2005).

Pathogenese der CED: Genetik und intestinales Mikrobiom

Die Ätiologie der CED ist komplex und multifaktoriell (Khor et al., 2011; Maloy und Powrie, 2011). Im Zentrum der Pathogenese steht eine überschießende Reaktion des Immunsystems auf das intestinale Mikrobiom (Gesamtheit aller Mikroorganismen) bei Individuen mit einer genetischen Prädisposition. Erhöhte Konkordanzraten bei eineiigen Zwillingen und ein erhöhtes Risiko unter Verwandten mit CED weisen auf die Rolle genetischer Risikofaktoren hin, welche für den MC eine größere Bedeutung haben als für die CU (Halme et al., 2006). Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) haben inzwischen mehr als 230 genomische Regionen (enthalten vermutlich >300 krankheitsrelevante Gene) mit einer CED in Verbindung gebracht und weisen eine CED als polygene Erkrankung aus (de Lange et al., 2017; Jostins et al., 2012; Liu et al., 2015). Pädiatrische GWAS Untersuchungen, welche überwiegend jugendliche CED-Patienten einschlossen, bestätigen ebenfalls das polygene Modell (Imielinski et al., 2009; Kugathasan et al., 2008). Viele dieser GWAS-identifizierten CED-Risikovarianten finden sich jedoch auch in der Normalbevölkerung, haben eine geringe Effektstärke und beeinflussen meist die Genexpression anstelle des Genprodukts (McGovern et al., 2015). Die GWAS Arbeiten waren jedoch wegweisend, da sie grundlegende Signalwege der CED-Pathogenese identifizierten. Hierzu zählen beispielsweise die epitheliale Barriere, die Erkennung von Bakterien durch den NOD2-Signalweg, die Autophagie oder die Interleukin (IL)-23/T-Helferzellen (Th)-17-Immunantwort (Uhlir und Powrie, 2018). Das Hauptrisiko der polygenen CED wird durch proteincodierende Varianten in den Genen *NOD2*, *IL23R* und *ATG16L1* vermittelt (Khor et al., 2011; McGovern et al., 2015). Neben diesen polygenen CED-Formen wurden seit der ersten Beschreibung von Patienten mit IL-10 Signaldefekten durch Glocker und Kollegen im Jahr 2009 zahlreiche weitere Arbeiten mit monogenen Ursachen einer CED veröffentlicht (Glocker et al., 2009; Uhlir, 2013).

Die rasche Zunahme der CED-Inzidenz in Industrienationen in nur wenigen Jahrzehnten kann durch Genetik alleine nicht erklärt werden. Steigende Zahlen von CED-Fällen aus Regionen mit bisher niedrigen Prävalenzen (z.B. Asien und der Mittlere Osten) oder das erhöhte CED-Risiko bei Migration in Länder mit westlichem Lebensstil weisen auf die Bedeutung von Umweltfaktoren und der Ernährung hin (Kaplan und Ng, 2017; Ng et al., 2018). Als Bindeglied zwischen Einflüssen aus der Umwelt (z.B. durch Antibiotika, Ernährung oder Stillen) und der Entzündungsreaktion im Darm steht das intestinale Mikrobiom. Die Produkte wesentlicher CED-Risikogene, wie z.B. NOD2 oder ATG16L1, sind an der Erkennung und Regulation intestinaler Mikroben beteiligt (Khor et al., 2011). Vor diesen Erkenntnissen aus der Genetik wurde die Bedeutung des Mikrobioms für die CED daran erkannt, dass es vornehmlich zur einer Entzündung in Darmabschnitten mit einer hohen Bakteriendichte kommt (Schwerd und Koletzko, 2019). Beim MC verbessert die Ausleitung des Stuhls über ein protektives Stoma die Entzündung im entlasteten Darm, wohingegen eine Re-Exposition zu einer erneuten Zunahme der Krankheitsaktivität führt (D'Haens et al., 1998; Janowitz et al., 1998; Rutgeerts et al., 1991). Ferner können Antibiotika-Kombinationen eine CED positiv beeinflussen (Breton et al., 2019; Levine et al., 2019a).

Die Analyse des intestinalen Mikrobioms bei CED-Patienten mittels Hochdurchsatzsequenzierungen zeigte, dass die mikrobielle Diversität im Darm (alpha-Diversität) mit zunehmender Darmentzündungsaktivität abnimmt. Dies wird als Dysbiose bezeichnet und beschreibt eine Änderung in Struktur oder Funktion des intestinalen Mikrobioms, die zu einem Ungleichgewicht zwischen kommensalen (sog. Symbionten) und potenziell schädlichen Mikroorganismen (sog. Pathobionten) führen kann und in der Folge die Mikrogen-Wirt-Interaktion stört. In wie fern die Dysbiose oder sogar einzelne Taxa (Pathobionten) ursächlich für die CED verantwortlich sind, ist bisher nicht verstanden, jedoch lassen sich Veränderungen im mikrobiellen Ökosystem bereits bei Diagnose nachweisen (Gevers et al., 2014). Typische Veränderungen beinhalten eine Reduktion von *Clostridiales* und speziell der Spezies *Faecalibacterium prausnitzii*, und eine Zunahme der *Enterobacteriales* wie *Escherichia coli* (Wright et al., 2015). Im Tiermodell führt der Transfer einer MC-assoziierten Mikrobiota zu einer Entzündung des Darms im Empfängertier (Schaubeck et al., 2016).

Therapie der CED in der Pädiatrie

Ziel der CED-Therapie bei Kindern und Jugendlichen ist es, den natürlichen Krankheitsverlauf so zu beeinflussen, dass eine ungestörte körperliche und psychosoziale Entwicklung möglich ist und Komplikationen vermieden werden (Ruemmele et al., 2014; Schwerd und Koletzko, 2017; Turner et al., 2018a; Turner et al., 2018b). Dieses Ziel geht Hand in Hand mit der Forderung nach einem vollständigen und dauerhaften Ausheilen der entzündeten Darmschleimhaut (sog. *Mucosal Healing* oder *Deep Remission*) (Peyrin-Biroulet et al., 2015). Grundsätzlich unterscheidet man die Induktionstherapie zur Behandlung der akuten Entzündung mit dem Ziel einer Remission, von einer Erhaltungstherapie, welche den Zustand der Remission bewahren soll. In der Pädiatrie stehen u.a. Glukokortikoide, 5-Aminosalicylate, Azathioprin, Methotrexat, Biologika, wie z.B. Infliximab oder Adalimumab, und die exklusive Ernährungstherapie (EET) beim MC zur Verfügung. Chirurgische Therapien kommen bei Komplikationen zum Einsatz.

Die EET stellt eine Besonderheit in der Therapie des MC dar, da es sich um eine rein diätetische Intervention handelt. Die EET stellt die Therapie der ersten Wahl zur Remissionsinduktion im akuten Erkrankungsschub bei Kindern und Jugendlichen mit lumenalem MC dar (Ruemmele et al., 2014). Für sechs bis acht Wochen erhalten die Patienten eine vollbilanzierte, auf kuhmilcheiweißbasierende Formelnahrung zur ausschließlichen Ernährung (Miele et al., 2018). Bei einer Kuhmilchproteinallergie wird eine Elementardiät verwendet. Die EET ist in ihrer Effektivität einer Therapie mit systemischen Glukokortikoiden vergleichbar, hat jedoch deutlich weniger Nebenwirkungen (Dziechciarz et al., 2007; Heuschkel et al., 2000; Miele et al., 2018). Weitere Vorteile der EET sind eine im Vergleich zu Glukokortikoiden verbesserte Abheilung der Darmmukosa (Borrelli et al., 2006; Pigneur et al., 2018), eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit (Cohen-Dolev et al., 2018) und eine Zunahme der Knochendichte (Werkstetter et al., 2013). Warum es durch die ausschließliche Zufuhr einer Formelnahrung zur Remission der chronischen MC-Entzündung kommt, ist bisher nicht bekannt.

1.2 Zielsetzung

Chronische Entzündung im GIT führt zu strukturellen Schäden (z.B. Stenosen, Fisteln), erhöht das Risiko für maligne Prozesse im Darm und kann zu Begleiterkrankungen führen (z.B. Mangelernährung, Osteoporose). Insbesondere strukturelle Schäden am GIT können Operationen notwendig machen und langfristig zu Resektion von Darmabschnitten führen. Beginnt eine CED bereits im Kindes- oder Jugendalter so müssen die Patienten über mehrere Jahrzehnte effektiv behandelt werden. Dabei müssen sowohl Übertherapie mit möglichen Nebenwirkungen (z.B. Medikamententoxizität, opportunistische Infektionen durch Immunsuppression), wie auch eine unkontrollierte Entzündung vermieden werden. Ein verbessertes Verständnis der CED-Ätiologie und der Therapien kann zum Erhalt einer dauerhaften Remission beitragen, um die Integrität des GIT zu bewahren und das Risiko von Begleiterkrankungen zu minimieren.

Ziel des Habilitationsprojekts war es daher, neue Erkenntnisse über Pathomechanismen, Diagnostik und Therapien der pädiatrischen CED zu erlangen: Am Beispiel von Patienten mit monogenetischen Erkrankungen wurden Mechanismen der intestinalen Homöostase beleuchtet (**Teil 1**). Dabei waren auch Patientengruppen von Interesse, deren primärer Immundefekt nicht zu einer Dysregulation des Schleimhautimmunsystems mit einer CED führt (**Teil 1**). Nachdem die Identifikation von singulären Gendefekten als Ursache einer CED direkte Implikationen für die Betreuung und die Therapie dieser seltenen Patienten hat, wurde ein diagnostischer Algorithmus für „monogene CED“ entwickelt (**Teil 2**). Die exklusive Ernährungstherapie kann nebenwirkungsarm und sehr effektiv Remission beim MC induzieren. Aufgrund der ausschließlichen Zufuhr einer Formelnahrung über mehrere Wochen ist sie jedoch keine langfristige Therapieoption. Ein besseres Verständnis der beteiligten Mechanismen stellt die Grundlage für eine Weiterentwicklung von diätetischen Interventionen bei CED in der Pädiatrie dar (**Teil 3**).

Die Habilitationsschrift umfasst klinisch-translationale und experimentelle Forschungsarbeiten, die sich in die folgenden drei Teilbereiche gliedert:

- Teil 1: Monogenetische CED und weitere primäre Immundefekte als Modellerkrankungen für das Verständnis des mukosalen Immunsystems**
- Teil 2: Diagnostischer Algorithmus zur Identifikation monogenetischer Formen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung**
- Teil 3: Exklusive Ernährungstherapie (EET) bei pädiatrischem Morbus Crohn: Klinische Effektivität und Wirkmechanismen**

2 Teilprojekte und Bedeutung der Arbeiten für das Fachgebiet

2.1 Monogenetische CED und weitere primäre Immundefekte als Modellerkrankungen für das Verständnis des mukosalen Immunsystems

Wie bereits in der Einführung dargelegt, sind chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) in der Regel komplexe Erkrankungen, welche aus einer gestörten Interaktionen zwischen Umweltfaktoren und dem Immunsystem bei polygenetischer Prädisposition resultieren (Khor et al., 2011; Maloy und Powrie, 2011; Uhlig und Powrie, 2018). Bei einer kleinen Subgruppe von Patienten ist ein einzelner Gendefekt für die CED verantwortlich (Uhlig, 2013; Uhlig und Schwerd, 2016). Diese seltenen Defekte betreffen meist Gene, die für essenzielle Bestandteile des mukosalen Immunsystems oder die Epithelbarriere im Darm kodieren und nicht durch andere Mechanismen kompensiert werden können. Daher geben sie wichtige Einblicke in die grundlegenden Mechanismen der intestinalen Homöostase.

2.1.1 Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease.

Schwerd T, Pandey S, Yang HT et al. Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease. *Gut* 2017;66:1060-1073.

Eine gestörte Mikrogen-Wirt-Interaktion ist ein wesentlicher Pathomechanismus bei einer CED, insbesondere beim MC. Genvarianten, die die Erkennung (z.B. *NOD2*) und den intrazellulären Abbau von Bakterien beeinflussen (z.B. *ATG16L1*, *IRGM*), erhöhen das Risiko für einen MC (Hugot et al., 2001; Jostins et al., 2012; Khor et al., 2011). Der intrazelluläre Abbau von phagozytierten Bakterien findet in einem konservierten Prozess statt, welcher als anti-bakterielle Autophagie oder Xenophagie bezeichnet wird (Lassen und Xavier, 2018). Stimulation des intrazellulären NOD2-Rezeptors mit dem Liganden Muramyl-dipeptid (MDP) aus der Zellwand von Bakterien führt zur Induktion der Autophagie und verbindet diese zwei wesentlichen Risikofaktoren des MC (Cooney et al., 2009; Homer et al., 2010; Travassos et al., 2009).

In einer Kohorte von Patienten mit der lysosomalen Speichererkrankung Morbus Niemann-Pick Typ C1 (NPC1) wurden vermehrt Fälle einer CED berichtet. Basierend auf dieser klinischen Beobachtung wurden 14 NPC-Patienten aus mehreren internationalen NPC-Zentren beschrieben, welche zusätzlich zu neurologischen Symptomen meist im Kindesalter eine CED entwickelten (Schwerd et al., 2017a). Die Penetranz einer CED bei NPC-Patienten wurde mit ca. 3-7% errechnet. Klinisch ähnelte die Darmentzündung einem MC mit Befall des Kolons und schweren perianalen Veränderungen.

Bemerkenswert war der Nachweis von auffallend großen Granulomen in der Histologie. Nachdem Granulome ein Hinweis auf einen Defekt im Verdau von Bakterien durch Phagozyten sind, wurde diese Achse bei Patienten mit NPC1 untersucht. Hier zeigte sich, dass Mutationen im *NPC1*-Gen den intrazellulären Autophagieprozess und damit auch den Abbau von Mikroben in Makrophagen stören. Davon war auch die NOD2-induzierte Xenophagie betroffen, ohne einen Effekt auf die NOD2-vermittelte Zytokinproduktion bei NPC-CED Patienten zu haben. Zum Vergleich wurden Patienten mit MC-assoziierten *NOD2*-Mutationen oder einer XIAP-Defizienz herangezogen, da beide Gene das Risiko für eine granulomatöse Darmentzündung erhöhen. XIAP-Defekte verursachen einen primären Immundefekt, welcher durch Immundysregulation und granulomatöser CED in ca. einem Fünftel der XIAP-defizienten Patienten gekennzeichnet ist (Aguilar et al., 2014). Die Ubiquitinligase XIAP bindet an den aktivierten NOD2-Rezeptor und ist im Komplex mit RIPK2 essentiell für die NOD2-Signalkaskade (Damgaard et al., 2013; Damgaard et al., 2012). Untersuchungen an primären Makrophagen zeigten, dass sowohl bei *NOD2*-Mutationen als auch bei *XIAP*-Mutationen ein Defekt in der MDP-stimulierbaren Xenophagie vorliegt, wobei aber zusätzlich die MDP-vermittelte Produktion pro-inflammatorischer Zytokine betroffen ist. Induktion der Xenophagie mit dem zugelassenen Neuroleptikum Chlorpromazin führte unabhängig von dem NPC1-Defekt zu einem effektiven zellvermittelten Abbau von Salmonellen oder *E. coli* in Makrophagen *in vitro* (Schwerd et al., 2017a).

Diese Arbeit untersuchte Patienten mit Mutationen in drei unterschiedlichen Genen (*NOD2*, *XIAP* und *NPC1*), welche zu einem ähnlichen klinischen Phänotyp, einer granulomatösen Colitis, führen. Alle Gene kodieren für Schlüssel-moleküle der anti-bakteriellen Autophagie, jedoch auf unterschiedlicher Höhe in der Kaskade (Schwerd et al., 2017a). Dies unterstreicht die Bedeutung der NOD2-vermittelten anti-bakteriellen Autophagie für eine CED und verbindet polygene mit monogenen Risikofaktoren. Die zentrale Rolle der anti-bakteriellen Autophagie zeigt sich auch an der Identifikation eines weiteren Gendefekts in *TRIM22* bei Patienten mit CED und Granulomen in der Histologie. *TRIM22* kodiert für eine Ubiquitinligase, welche wie XIAP oder NPC1 unterhalb des Rezeptors NOD2 arbeitet (Li et al., 2016). Obwohl die Penetranz einer CED bei NPC-Patienten mit 3-7% niedrig ist, liegt sie doch deutlich über der von *NOD2*-Risikovarianten (Yazdanyar et al., 2010). Die Ergebnisse zeigen auch, dass ein MC nicht notwendigerweise als Folge einer mangelnden Induktion entzündlicher Zytokine (z.B. TNF, IL-6, IL-8) durch den NOD2-Rezeptor erachtet werden sollte. Vielmehr könnten der Autophagiedefekt und der mangelnde Abbau von Bakterien, welche in die Darmwand eingedrungen sind, verantwortlich sein. Verbleibende Bakterienbestandteile in der Lamina propria könnten zu einer Aktivierung von Zellen des angeborenen Immunsystems und zur Induktion von chronischer Entzündung führen. In diesem Kontext erscheint die Induktion der Autophagie ein interessanter therapeutischen Ansatz, da eine CED bisher primär immunsuppressiv und anti-entzündlich behandelt wird (Ruemmele et al., 2014).

2.1.2 NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease.

Schwerd T, Bryant RV, Pandey S et al. NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease. *Mucosal Immunol* 2018;11:562-574.

Im Gastrointestinaltrakt trennt ein einschichtiges Zylinderepithel die Mikroben im Darmlumen von den Immunzellen in der Lamina propria. Um die Barrierefunktion aufrecht zu erhalten nutzt das Epithel verschiedene Mechanismen (Pastorelli et al., 2013; Turner, 2009). Varianten in GWAS-identifizierten Kandidatengenen, welche für epitheliale Funktionen codieren, erhöhen das Risiko für eine CED (z.B. *GNAI2*, *HNF4A*, *MUC19*, oder *XPB1*) (Jostins et al., 2012; Khor et al., 2011). Zusätzlich zeigt sich die Bedeutung der epithelialen Barriere an monogenetischen Erkrankungen, welche Komponenten einer intakten Epithelfunktion betreffen und mit einer hohen Penetranz eine CED auslösen (Uhlig und Schwerd, 2016). In Vorarbeiten von Hayes und Kollegen wurde eine seltene Mutation in NOX1 p.P330S und die Assoziation des NOX1-Polymorphismus p.D360N mit einer CU in aschkenasischen Juden beschrieben (Hayes et al., 2015). NOX1 ist die katalytische Untereinheit der Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH)-Oxidase NOX1. Sie besteht aus insgesamt fünf Untereinheiten (NOX1, p22phox, NOXA1, NOXO1, und Rac1-GTP) und bildet die reaktive Sauerstoffspezies Superoxidanionen (Bedard und Krause, 2007; Lambeth, 2004). Im Gegensatz zum strukturhomologen NOX2, welches in Phagozyten exprimiert wird und Ursache des primären Immundefekts septische Granulomatose sein kann, wird die NADPH-Oxidase 1 im Darmepithel exprimiert (Jones und Neish, 2017; Szanto et al., 2005). Die Expression von NOX1 nimmt im Darm von proximal nach distal zu und folgt damit der physiologischen Bakteriendichte im Gastrointestinaltrakt.

Die Arbeit beschreibt die Identifikation und Charakterisierung von sechs weiteren, seltenen Genvarianten in NOX1 in acht männlichen Patienten mit frühkindlicher Darmentzündung (Schwerd et al., 2018). Der Indexpatient wurde im Alter von fünf Jahren mit einer unklassifizierten Colitis diagnostiziert. Mittels einer Genomsequenzierung wurde bei diesem Patienten eine neue hemizygote Variante in *NOX1* (NM_007052; c.A364C; p.N122H) entdeckt. Diese Missense-Variante war bisher in keiner Datenbank beschrieben, kodierte für eine evolutionär konservierte Aminosäure und der Vorhersage nach störte sie die Proteinfunktion. In der funktionellen Aufarbeitung mit Zelllinien, primären Biopsien und Organoiden aus dem Kolon des Patienten zeigte sich, dass p.N122H zu einem vollständigen Verlust der Bildung von Superoxidanionen führte. Um weitere Patienten mit *NOX1*-Mutationen zu charakterisieren wurden Ergebnisse von Exom-Sequenzierungen von 1.878 Patienten mit pädiatrischer CED analysiert. Hier wurden sieben männliche Patienten und fünf zusätzliche, nicht-synonyme seltene *NOX1*-Varianten entdeckt. Alle Patienten waren früh an einer Kolitis mit schwerem Verlauf erkrankt (Alter bei Diagnose zwischen 1,8 bis 10,5 Jahren). Entsprechend dem Expressionsmuster von *NOX1* betraf die Entzündung bei allen Patienten das Kolon. In Experimenten mit der Zelllinie HCT116 führten die überexprimierten *NOX1*-Varianten zu einem unterschiedlich stark ausgeprägten Verlust der Produktion von Superoxidanionen. Während die Varianten p.N122H und

p.T497A in einem kompletten Verlust resultierten, wurde eine variable Reduktion der Superoxid-anionen-Produktion durch die Varianten p.Y470H, p.R287Q, p.I67M und p.Q293R beobachtet. In diesen Versuchen wurden zum Vergleich die bereits beschriebenen Varianten p.P330S und der NOX1-Polymorphismus p.D360N (rs34688635) mituntersucht. Sie zeigten im Vergleich zum Wildtyp moderate Effekte auf die Superoxidationen-Produktion. Nachdem neben seltenen Varianten auch häufige Polymorphismen in *NOX1* für die Entstehung einer Colitis relevant sein könnten, wurde in einer Assoziationsstudie mit 9.513 gesunden Kontrollen und 11.140 CED-Patienten europäischer Abstammung die Bedeutung des Polymorphismus p.D360N untersucht. Obwohl dieser mit einer CU bei aschkenasischen Juden assoziiert war (Hayes et al., 2015), wurde keine Assoziation mit einer CED in der europäischen Bevölkerung gefunden (Schwerd et al., 2018). Um den Stellenwert von genetischen Veränderungen in *NOX1* zu bewerten, wurde aus dem ExAC Datensatz (Exome Aggregation Consortium, ExAC) die Anzahl hemizygoter *NOX1*-Mutationen (Missense-, Nonsense- oder Frameshift-Mutation) mit der Anzahl in *NOX2* verglichen. Die Analyse ergab, dass *NOX1*-Mutationen weitaus häufiger in der Bevölkerung vertreten waren als *NOX2*-Mutationen (Schwerd et al., 2018).

Die hier dargestellten Untersuchungen zeigen, dass seltene *NOX1*-Mutationen bei CED-Patienten zu einem Varianten-spezifischen Verlust der NADPH-Oxidase 1 Aktivität führen. Verschiedene Mechanismen, wie dies für eine CED prädisponiert, wurden diskutiert. Superoxidationen werden konstitutiv produziert und sind in Kolonkrypten nachweisbar (Schwerd et al., 2018). Eine antibakterielle Schutzwirkung gegen eine Kolonisierung der Darmkrypten wurde postuliert (Pastorelli et al., 2013; Turner, 2009). Alternativ kommt ein verändertes Grenzflächenmilieu in Betracht, welches eine mikrobielle Dysbiose begünstigt. Dieser Mechanismus wurde auch als Erklärung der intestinalen Inflammation bei Patienten mit familiärer Diarrhoe in Betracht gezogen (Fiskerstrand et al., 2012; Janecke et al., 2015; Muller et al., 2016). Weiteren Einfluss auf die epitheliale Barriere üben *NOX1*-Superoxidationen über einen Effekt auf die Differenzierung des Darmepithels oder die Funktion schleimproduzierender Becherzellen aus (Coant et al., 2010; Patel et al., 2013; Treton et al., 2014). Trotz des teilweise kompletten Funktionsverlustes von *NOX1* durch einige Mutationen und der pleiotropen Funktionen auf das Epithel wurden keine vermehrten Infektionen mit Enteropathogenen bei *NOX1*-defizienten Patienten beobachtet. Diese Beobachtung spiegeln auch Infektionsexperimente mit Salmonellen in *Nox1* knockout Mäusen wieder (Chu et al., 2016). In Anbetracht der Häufigkeit von Genvarianten in *NOX1* im Vergleich zu *NOX2* in der gesunden Bevölkerung, stellen *NOX1*-Mutationen eher einen CED-Suszeptibilitätsfaktor dar und sind keine Ursache einer monogenen CED mit hoher Penetranz (Schwerd et al., 2018). In Analogie mit dieser Schlussfolgerung ist im Tiermodell eine *Nox1*-Defizienz für eine Kolitis nicht ausreichend, während sie bei *Il-10* knockout Mäuse zu einer früher-beginnenden und schwerer ausgeprägten Darmentzündung führt (Treton et al., 2014). Interessanterweise prädisponieren auch Mutationen in *DUOX2*, einem anderen Mitglied der NADPH-Oxidasen Familie, für eine CED. Dies unterstreicht die Bedeutung der NADPH-Oxidasen für die intestinale Homöostase (Hayes et al., 2015; Levine et al., 2016).

2.1.3 A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis.

Neben Immun- und Epitheldefekten, welche mit einer Darmentzündung einhergehen, geben auch seltene Mutationen, welche zu einem Immundefekt führen, aber keine Darmentzündung verursachen, wichtige Einblicke in Mechanismen und Signalwege der intestinalen Homöostase.

Schwerd T, Twigg SRF, Aschenbrenner D et al. A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis. *J Exp Med* 2017;214:2547-2562.

Diese Arbeit beschreibt eine Patientin konsanguiner Eltern, welche sich mit wiederkehrenden Infektionen, Hautekzem und schweren Veränderungen am Skelettsystems, wie Skoliose und einer Kraniosynostose, präsentierte (Schwerd et al., 2017b). Die Infektionen machten wiederholte Antibiotikatherapien und Krankenhausaufenthalte notwendig und führten zur Ausbildung von Bronchiektasen. Laborchemisch fielen ein deutlich erhöhtes IgE und intermittierend eine Eosinophilie auf. Eine Akute-Phase-Reaktion war selbst bei schwersten Infektionen nur wenig ausgeprägt und die Patientin entwickelte kein Fieber (Schwerd et al., 2017b). Der Phänotyp erinnerte an Patienten mit einem autosomal-dominanten Hyper-IgE-Syndrom (AD-HIES) mit Mutationen in *STAT3*, welches als Transkriptionsfaktor pleiotrope Zytokinsignale vermittelt (u.a. IL-6, IL-11, IL-10 oder IL-21) (Grimbacher et al., 1999; Grimbacher et al., 2005; Holland et al., 2007; Minegishi et al., 2007). Die genetische Aufarbeitung der Patientin ergab einen Defekt im Gen *Interleukin-6-Signal-Transducer (IL6ST; c.1210A>T; p.N404Y)*, welches für das Membranprotein GP130 kodiert. Die Mutation war in keiner Datenbank nachweisbar und die Aminosäure Asparagin an der Position 404 hochkonserviert. GP130 ist als essentieller Ko-Rezeptor verantwortlich für die Signalvermittlung der IL-6 Zytokinfamilie (O'Shea und Plenge, 2012; Sims, 2009). Dazu zählen IL-6, IL-11, IL-27, *Leukemia Inhibitory Factor (LIF)*, *Oncostatin M (OSM)*, *Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF)*, *Cardiotrophin 1 (CT1)* oder *Cardiotrophin-like cytokine (CLC)*. Die Signaltransduktion über GP130 führt zur Aktivierung des JAK/STAT Signalweges, insbesondere zur Phosphorylierung von STAT1 und STAT3, und des RAS/MAPK Signalweges (O'Shea und Plenge, 2012). Der funktionelle Effekt der Mutation p.N404Y wurde in Versuchen an primären Zellen (T-Zellen, B-Zellen, Monozyten und Fibroblasten) der Patientin und in *in vitro* Modellen zur STAT1/3-Phosphorylierung untersucht. Hier zeigte sich ein vollständiger Verlust des IL-6 und des IL-11 Signals und eine Reduktion der Signale von IL-27 und OSM. Die Zellen reagierten aber weiterhin auf Stimulation mit LIF. Der lentivirale Transfer von Wildtyp-GP130 in primäre Fibroblasten führte zur Rekonstitution des IL-6 und IL-11 Signals. Immunologisch waren bei der Patientin Th17-Zellen nachweisbar, jedoch fand sich eine reduzierte Zahl an Gedächtnis B-Zellen.

Folgenden Erkenntnisse wurden aus dieser Arbeit gezogen: Erstmals wurde anhand einer Patientin ein neuer primärer Immundefekt durch Mutation in *IL6ST* (GP130-Defizienz) beschrieben, der sich durch Immundefizienz, Skelettfehlbildungen und der Störung mehrerer Zytokinsignale (IL-6, IL-11, IL-27,

and OSM) auszeichnet (Schwerd et al., 2017b). Die phänotypische Überlappung zwischen dieser GP130-Patientin und Patienten mit AD-HIES durch *STAT3*-Mutationen erlaubt eine Eingrenzung der ursächlichen Signalwege auf IL-6 und IL-11, welche für die wesentlichen Pathologien verantwortlich sind (Minegishi und Saito, 2011; Schwerd et al., 2017b). IL-6 spielt als Zytokin eine zentrale Rolle in der Aktivierung und Differenzierung von T- und B-Zellen und in der Auslösung einer Akute-Phase-Reaktion (Hunter und Jones, 2015). Die pulmonale Infektionsanfälligkeit und die Abwesenheit von Fieber sind gut mit dem defekten IL-6 Signalweg erklärbar. Skelettfehlbildungen sind in dieser (IL6ST) und anderen Arbeiten (IL-11R, STAT3) mit verschiedenen Defekten der IL-11 Zytokinkaskade assoziiert worden (Keupp et al., 2013; Nieminen et al., 2011; Schwerd et al., 2017b; Twigg und Wilkie, 2015). In der Zwischenzeit wurde durch Shahin und Kollegen ein weiterer Patient mit GP130-Defizienz beschrieben (Shahin et al., 2019). Die immunologische Aufarbeitung beider Patienten zeigte, dass ein fehlendes IL-6 Signal zu einer beeinträchtigten Differenzierung von Th-17 Zellen führt (Schwerd et al., 2017b; Shahin et al., 2019).

GP130-Defizienz ist nicht mit einer CED assoziiert. Dies ist interessant, da IL-6 ein wichtiger Botenstoff für die Aufrechterhaltung der epithelialen Barriere ist (Friedrich et al., 2019; Zhou und Sonnenberg, 2018). So induziert IL-6 beispielweise in Epithelzellen die Mukusbildung oder induziert in *Innate Lymphoid Cells 3* protektives IL-22 (Fung et al., 2016; Kuhn et al., 2017). Da IL-6 auch ein wesentliches Überlebenssignal für pro-inflammatorische T-Zellen ist, könnte das fehlende IL-6 Signal eine maladaptive T-Zellantwort in der Lamina propria verhindern und für die eingeschränkte Epithelfunktion kompensieren (Hunter und Jones, 2015). Dieser Mechanismus könnte auch bei Patienten mit AD-HIES oder einem defekten IL-6-Rezeptor zu tragen kommen, welche ebenfalls keine CED haben (Grimbacher et al., 1999; Grimbacher et al., 2005; Holland et al., 2007; Spencer et al., 2019).

2.1.4 A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome.

Schwerd T, Khaled AV, Schurmann M et al. A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome. *Eur J Hum Genet* 2016;24:889-94.

Autosomal dominante Mutationen in *Phosphatase and Tensin Homolog-Gen PTEN* verursachen eine klinisch heterogene Gruppe von Erkrankungen welche unter dem Begriff PTEN-Hamartom-Tumor-Syndrom (PHTS) zusammengefasst werden (Mester und Eng, 2013). Betroffene Patienten leiden an Malignomen, mukokutane Hamartomen, Makrozephalie, sowie geistiger Retardierung oder Autismus-Spektrum-Störungen. PTEN ist eine Phosphatase und reguliert als Gegenspieler der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) den *Second Messenger* Phosphatidylinositol-3,4,5-Trisphosphat (PIP3). PTEN steuert damit zahlreiche zelluläre Funktionen, wie z.B. Proliferation, Differenzierung oder Zellstoffwechsel

(Hopkins et al., 2014; Song et al., 2012; Stambolic et al., 1998). Dies betrifft auch die Funktionen von T- und B-Zellen und führt bei PHTS Patienten zu einem primären Immundefekt (Nunes-Santos et al., 2019; Okkenhaug, 2013). In diesem Zusammenhang wurden Infektanfälligkeit, Immundysregulation mit Autoimmunität, lymphatische Hyperplasie, Defekte in der B-Zell Differenzierung, Hypogammaglobulinämie oder eine CED beschrieben (Browning et al., 2015; Chen et al., 2017; Driessen et al., 2016; Heindl et al., 2012; Tsujita et al., 2016).

Bei der Aufarbeitung von Patienten mit PHTS und möglichen Immunphänotypen entstand eine Arbeit, welche eine homozygote seltene pathogene *PTEN*-Mutation (NM_000314.4: chr10:g.89711927T>C; c.545T>C; p.Leu182Ser) bei zwei Geschwistern blutsverwandter Eltern türkischer Abstammung charakterisiert (Schwerd et al., 2016b). Die beiden Geschwister (15 und 18 Jahre alt) fielen durch eine progrediente Makrozephalie und geistige Retardierung auf. Homozygote oder compound heterozygote Mutationen in *PTEN* wurden bei Menschen bisher nicht beschrieben und in Mäusen ist eine homozygote *pten* Deletion durch Störung der Organogenese letal (Stiles et al., 2004). Nachdem die Eltern Träger der heterozygote Genmutation sind, jedoch bis zum Alter von 45 Jahren keine Pathologien zeigten, ist davon auszugehen, dass die Mutation in ihrer heterozygoten Form einen hypomorphen Effekt hat. Im homozygoten Zustand kann dieser PTEN-Defekt jedoch nicht mehr ausreichend kompensiert werden und es kommt zum PHTS. Abgesehen von hypertrophischen Adenoiden in einer Patientin waren keine weiteren Symptome einer Immundysregulation offensichtlich. Dies ist interessant, da die homozygote *PTEN*-Mutation einen nachweisbaren funktionellen Effekt in primären B-Zelllinien hatte und zu einer Hyperphosphorylierung von S6 (PI3K/AKT-Substrat) führte (Schwerd et al., 2016b). Warum *PTEN*-Mutationen nur eine unvollständige Penetranz des Immunphänotyps verursachen, ist bisher nicht bekannt. Eine Genotyp-Phänotyp-Korrelationen oder der Einfluss modifizierender Genvarianten werden diskutiert. Die Arbeit erweitert das Spektrum an *PTEN*-Mutationen und zeigt, dass unter bestimmten Voraussetzungen homozygote *PTEN*-Mutationen bei Menschen auftreten können (Schwerd et al., 2016b).

2.2 Diagnostischer Algorithmus zur Identifikation monogenetischer Formen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung

Uhlig HH, Schwerd T, Koletzko S *et al.* The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:990-1007 e3.

Uhlig HH, Schwerd T. From Genes to Mechanisms: The Expanding Spectrum of Monogenic Disorders Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:202-12.

Schwerd T, Koletzko S. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:257-270.

Durch den Fortschritt in der DNA-Sequenzierungstechnologie wurden in den vergangenen Jahren mehr als 60 monogenetische Defekte beschrieben, die mit einer Darmentzündung assoziiert sind (Uhlig und Schwerd, 2016). Sie stören über verschiedenen Mechanismen die intestinale Immunhomöostase und gehen häufig mit einem primären Immundefekt einher. Zu diesen Defekten zählen Störungen der Epithelbarriere, Dysfunktionen von Granulozyten und/oder Monozyten/Makrophagen, Pathologien in der Selektion oder Aktivierung von T- oder B-Zellen oder fehlende Inhibitionsmechanismen, welche zu Hyper- oder Autoinflammation führen, wie z.B. der Wegfall der IL-10 Signalkaskade oder eine Dysfunktion regulatorischen T-Zellen (Uhlig, 2013; Uhlig und Schwerd, 2016). Eine CED auf dem Boden eines monogenetischen Defekts muss sich weder endoskopisch noch histologisch von einer idiopathischen (polygenen) CED unterscheiden und kann das einzige Symptom eines primären Immundefekts sein. Monogenetische CED sind seltene Erkrankungen mit einer geschätzten Prävalenz zwischen 1:10.000 bis 1:10.000.000 (Uhlig, 2013). Diese Varianten werden daher in GWAS nicht detektiert.

Obwohl diese Defekte als „monogen“ bezeichnet werden, liegt bei der Mehrzahl der Erkrankungen keine vollständige Penetranz der intestinalen Darmentzündung vor (Schwerd und Uhlig, 2017; Uhlig und Schwerd, 2016). Monogenetische CED umfasst vielmehr ein Spektrum unterschiedlicher Penetranzen des CED-Phänotyps. Eine vollständige Penetranz liegt beispielsweise für die IL-10 Signaldefekte vor. Hier erkranken alle Mutationsträger innerhalb der ersten drei Lebensmonate an einer Kolitis (Engelhardt et al., 2013; Glocker et al., 2009; Kotlarz et al., 2012). Für die XIAP-Defizienz ist eine intermediäre Penetranz aus den veröffentlichten Fällen mit und ohne CED errechnet worden, sie liegt bei ca. 20-30% (Aguilar et al., 2014; Speckmann und Ehl, 2014; Speckmann et al., 2013; Zeissig et al., 2015). Weitere monogenetische Erkrankungen mit einer mittleren CED-Penetranz sind beispielsweise das IPEX-Syndrom (Kolitis), die Septischen Granulomatose oder das Hermansky-Pudlak Syndrom 1 oder 4 (Uhlig und Schwerd, 2016). Träger einer homozygoten bzw. compound heterozygoten *NOD2*-Mutation erkranken bis zum Alter von 50 Jahren in nur 1,5% an einer CED (Yazdanyar et al., 2010). Diese *NOD2*-Mutationen stellen daher den Scheitelpunkt dar, zwischen den monogenetischen CED-Formen mit inkompletter Penetranz und den GWAS-identifizierten CED-Risikovarianten mit minimalen Effektstärken (Uhlig und Schwerd, 2016).

Basierend auf einer Auswertung des Krankheitsbeginns bei monogenen CED-Fällen zeigte sich, dass trotz der unterschiedlichen Penetranz die meisten Patienten mit monogenen CED-Erkrankungen in den ersten sechs Lebensjahren symptomatisch werden. Dies rechtfertigte die Definition einer Altersgrenze für frühkindliche Darmentzündungen (*very early onset IBD, VEO-IBD*), welche verdächtig auf eine monogene Grunderkrankung ist, auf Patienten in den ersten sechs Lebensjahren (Uhlig et al., 2014).

Bisherige Leitlinien zur CED-Diagnostik fokussierten auf Kinder unter zwei Jahren (Levine et al., 2014a). Die Grenze von sechs Jahren ist jedoch nicht als absolut zu verstehen, da für einige Gendefekte ein variabler Beginn der CED beschrieben wurde (z.B. XIAP-Defizienz).

Eine monogenetische CED bei einem Patienten zu diagnostizieren ist eine klinische Herausforderung. Zum einen liegt nur bei einem Bruchteil der Patienten mit einer Entzündung im GIT eine monogenetische CED vor. Zum anderen ist das Spektrum an Phänotypen äußerst breit und es gibt keine spezifischen Merkmale für eine monogene CED im Vergleich zu einer idiopathischen (polygenen) CED. Die richtige Diagnose ist jedoch von großer Bedeutung, da sich hieraus für den einzelnen Patienten direkte Konsequenzen ableiten können (Schwerd und Uhlig, 2017; Uhlig et al., 2014). Hierzu zählen individuelle Behandlungsoptionen (wie z.B. Stammzelltransplantation oder der Einsatz von Medikamenten die nicht zum CED-Standardrepertoire zählen), genetische Familienberatung oder spezifische Vorsorgeuntersuchungen (wie z.B. Infektions- und Tumorscreening) (Schwerd und Uhlig, 2017). Eine Stammzelltransplantation (SZT) kann bei einem Defekt im hämatopoetischen System heilend sein. Resultiert die Genmutation jedoch in einen epithelialen Defekt, so hat eine SZT keine Wirkung (Kammermeier et al., 2014). Daher haben wir klinische Kriterien und einen diagnostischen Algorithmus entwickelt, der den behandelnden Arzt bei der Diagnose einer monogenen CED unterstützt (Schwerd und Uhlig, 2017; Uhlig et al., 2014).

Zu Beginn des Algorithmus steht der Ausschluss von Differentialdiagnosen für eine CED und die vollständige CED-Diagnostik nach den Porto-Empfehlungen (Levine et al., 2014a; Schwerd und Koletzko, 2017). Anamnestische und klinische Kriterien, welche an eine monogene CED denken lassen sollten, sind ein früher Beginn der CED, d.h. vor dem sechsten Lebensjahr, eine positive Familienanamnese für CED, extraintestinale Befunde (u.a. Autoimmunität, Immundysregulation, Infektionen oder Tumoren) oder ein schwerer bzw. therapierefraktärer CED-Verlauf (Schwerd und Uhlig, 2017; Uhlig et al., 2014). Der diagnostische Algorithmus basiert auf zwei parallelen Strategien. Eine Strategie verfolgt die Phänotypisierung und funktionelle Untersuchungen des Immunsystems mit anschließender Bestätigung der Verdachtsdiagnose durch gezielte Gendiagnostik. Hier muss einschränkend hinzugefügt werden, dass nur für wenige Erkrankungen spezifische diagnostische Tests zu Verfügung stehen (wie z.B. Septische Granulomatose, XIAP-Defizienz, IL-10-Rezeptor-Defekte). Die zweite Strategie sieht den direkten Einsatz der genetischen Hochdurchsatzsequenzierung vor, um das Kandidatengen zu identifizieren (genetisches Screening durch Multi-Gen-Panel oder Exomsequenzierung). Nach der Sequenzierung benötigen alle genetischen Methoden eine sorgsame bioinformatische Aufarbeitung, um die Relevanz der Genvarianten richtig einzuordnen (pathogen, wahrscheinlich pathogen, wahrscheinlich gutartig, gutartig, Signifikanz unklar). Da zahlreiche Varianten in den Genen eine unklare Signifikanz haben, sollte eine funktionelle Validierung stets angestrebt werden (Schwerd und Uhlig, 2017; Uhlig et al., 2014). Dies bleibt häufig Forschungslaboren vorenthalten.

Die Bedeutung dieses Algorithmus für die Identifikation von monogener CED wurde in einem Fallbericht unterstrichen (Quaranta et al., 2018). Bei einem Patienten mit einer schweren und therapierefraktären CED führte die Exomsequenzierung im Alter von 41 Jahren zur Diagnose einer XIAP-Defizienz (Quaranta et al., 2018). Die entdeckte XIAP-Mutation (c.145C>T) resultierte in einem Stopcodon mit einem vorzeitigen Abbruch des Proteins (p.R49*), wodurch es zu einem kompletten Verlust der Proteinexpression und der NOD2-Signaltransduktion kam (s. Teil 1). Aufgrund zahlreicher Darmoperationen und einem hohen Jejunostoma benötigte der Patient eine heimparenterale Ernährung und wurde für eine Darmtransplantation evaluiert. Die Diagnose einer XIAP-Defizienz änderte das therapeutische Vorgehen. Die geplante Darmtransplantation wurde ausgesetzt und eine hämatopoetische SZT diskutiert. Bei diesem Patienten hätte mit einer frühen genetischen Diagnostik möglicherweise schwerwiegende Komplikationen am Darm verhindert werden können und dem Patienten wäre viel Leid und zahlreiche Krankenhausaufenthalte erspart geblieben. Der Fallbericht zeigt auch, dass eine frühzeitige genetische Diagnose dem Gesundheitssystem Kosten ersparen kann (Quaranta et al., 2018).

2.3 Exklusive Ernährungstherapie (EET) bei pädiatrischem Morbus Crohn: Klinische Effektivität und Wirkmechanismen

Wie bereits einleitend beschrieben, stellt die EET die Therapie der ersten Wahl zur Remissionsinduktion beim aktiven luminalen MC im Kindes- und Jugendalter dar (Ruemmele et al., 2014).

2.3.1 Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome.

Frivolt K*, **Schwerd T***, Werkstetter KJ *et al.* Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:1398-407. (*both authors contributed equally)

In dieser Arbeit wurde das klinische Ansprechen auf die EET und die 1-Jahres Rezidivrate nach EET in unserem Kollektiv pädiatrischer MC-Patienten untersucht (Frivolt et al., 2014). Da es bisher kaum Daten über die Effektivität und den Verlauf nach einer wiederholten EET gab, wurde diese ebenfalls evaluiert. Hierzu wurden alle Patientenverläufe nach Beginn einer EET zwischen den Jahren 2004 und 2011 retrospektiv ausgewertet und die Krankheitsaktivität mit einem Score (mathematically weighted Paediatric Crohn's Disease Activity Index, wPCDAI) beurteilt. Dieser mathematisch gewichtete Score hat eine hohe Trennschärfe zwischen unterschiedlichen Krankheitsaktivitäten (Turner et al., 2012). Zusätzlich waren alle Bewertungskriterien des wPCDAI systematisch in den Akten erfasst worden und erlaubten die retrospektive Auswertung. Als Besonderheit dieser Arbeit wurde Remission (wPCDAI <12,5 Punkte) nicht unter EET sondern erst vier Wochen nach Wiedereinführung der Normalkost beurteilt. Ein erneuter Anstieg des wPCDAI über 12,5 Punkte, eine Eskalation der Therapie, eine

Operation oder eine erneute EET wurde als Rezidiv gewertet. Modulen IBD® (Nestlé Health Science) wurde als Formelnahrung der EET von 45/52 Patienten verwendet.

Anhand von 52 Patienten (mittleres Alter 13,2 Jahre) zeigte sich, dass eine initiale EET sehr erfolgreich Remission bei pädiatrischen Patienten induziert (48/52 Patienten, 92%), welche mit einer Verbesserung des Body-Mass-Index (BMI) und einer Reduktion der Entzündungsparameter einherging (Frivolt et al., 2014). Obwohl mehr als 80% eine moderate bis schwere Krankheitsaktivität zu Beginn der EET aufwiesen, normalisierten sich die Entzündungswerte bei ca. der Hälfte der Patienten. Ähnlich hohe Remissionsraten wurden von zahlreichen anderen Zentren berichtet (Buchanan et al., 2009; Grogan et al., 2012; Lee et al., 2015; Levine et al., 2014b; Rubio et al., 2011). Unsere Ergebnisse bestätigen damit die hohe Effektivität einer initialen EET beim aktiven MC bei Kindern und Jugendlichen. Eine zweite EET wurde in unserer Kohorte von 26 Patienten durchgeführt und bei 20 Patienten wurde Remission induziert (77%) (Frivolt et al., 2014). Krankheitsaktivität und Entzündungswerte waren zu Beginn der zweiten EET im Vergleich zur primären EET niedriger, verbesserten sich jedoch signifikant im Verlauf der Therapie. Für eine zweite EET werden in der Literatur Remissionsraten zwischen 58,3% bis 80% angegeben (Cameron et al., 2013; Day et al., 2006; Knight et al., 2005), welche mit unserem Ergebnis übereinstimmen. Die Arbeit konnte keine Faktoren identifizieren, welche die etwas niedrigere Remissionsrate nach zweiter EET erklären könnten. Insgesamt hatten weder Krankheitslokalisation noch Applikationsart der Nahrung (orale Aufnahme versus Sonde) einen Einfluss auf die Effektivität einer EET (Frivolt et al., 2014).

In der longitudinalen Auswertung der Krankheitsverläufe zeigte sich, dass nach erfolgreicher Remissionsinduktion durch EET 67% bzw. 70% nach erster bzw. zweiter EET ein Rezidiv innerhalb eines Jahres erlitten (Frivolt et al., 2014). Diese hohen Rezidivraten wurden trotz frühzeitigem Beginn des Immunmodulators Azathioprin in ca. zwei Drittel der EET-Kohorte beobachtet. Die 1-Jahres Rezidivrate nach EET wird in der Literatur zwischen 42,1% bis 65% angegeben (Faiman et al., 2014; Hojsak et al., 2014; Lambert et al., 2012; Miele et al., 2018; Rodrigues et al., 2007). Nachdem in unserer Studienpopulation 50% der Patienten eine schwere Krankheitsaktivität hatten, wurde auch der Frage nachgegangen, zu welchem Zeitpunkt es zu einer Therapieeskalation mit einem anti-TNF Biologikum kam. Hier zeigte sich, dass jene Patienten, die nach EET für ein Jahr in stabiler Remission blieben, langfristig keine anti-TNF Biologika-Therapie benötigten (Frivolt et al., 2014).

Für den Erfolg der EET ist die vollständige Elimination der Normalkost notwendig (Miele et al., 2018). Diese Arbeit von Frivolt und Kollegen unterstreicht ebenfalls den hohen Stellenwert der exklusiven Zufuhr einer Formelnahrung. Während die EET mit einer Reduktion des fäkalen Entzündungswertes Calprotectin einherging, führte die Zufuhr von Normalkost nach EET zu einem unmittelbaren Anstieg des Calprotectins (Frivolt et al., 2014). Obwohl dieser Anstieg in dieser Patientenpopulation nicht signifikant war, deutet dies auf eine direkte Zunahme der intestinalen Inflammation nach Ende der EET

und Wiederbeginn der Normalkost hin. Diese wichtige Beobachtung wurde in der Zwischenzeit in zwei prospektiven Studien bestätigt und unterstützt die Hypothese, dass der Ausschluss potentiell schädlicher Lebensmittel für den Erfolg der EET mitverantwortlich ist (Levine et al., 2019b; Logan et al., 2019).

2.3.2 Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation.

Schwerd T, Frivolt K, Clavel T et al. Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:592-6.

Aufgrund der dokumentierten Wirkung der EET auf die Abheilung der entzündeten Darmmukosa und den dabei nicht verstandenen Mechanismen, wurden in einem weiteren Projekt die Effekte der EET auf die intestinale Immunregulation und das Darmmikrobiom untersucht (Schwerd et al., 2016a). Als Besonderheit dieser prospektiven Studie wurden die Patienten nicht am Ende der EET, sondern bereits nach drei bis vier Wochen nachuntersucht, um die frühen Veränderungen durch die Ernährungsintervention zu charakterisieren. Es wurden 15 Kinder und Jugendliche mit MC, darunter 12 neu-diagnostizierte Patienten, in die Studie eingeschlossen (mittleres Alter 13,5 Jahre). Die neu-diagnostizierten Patienten waren zu beiden Zeitpunkten ohne Ko-Medikation. Die Studie bestätigte, dass es unter EET zu einem Rückgang der Entzündungsparameter kommt. Zusätzlich wurde gezeigt, dass primäre mononukleäre Zellen des peripheren Blutes während der EET *ex vivo* nach Stimulation mit den *Toll-like*-Rezeptor-Liganden Lipopolysaccharid (LPS) oder Flagellin weniger pro-inflammatorische Zytokine (u.a. IL-6, IL-8, IL-1 β oder IFN- γ) sezernieren. Die Ausschüttung der Botenstoffe TNF oder IL-17 änderte sich jedoch unter EET nicht. Nachdem die reduzierte Zytokinproduktion nicht durch quantitative Änderungen der Monozyten oder Lymphozyten im peripheren Blut erklärbar war, wurden Subpopulationen der T-Helferzellen (Th) mittels Durchflusszytometrie untersucht. Hier zeigten sich keine Änderungen bei den CCR6⁺ (Th17) oder CRTH2⁺ (Th2) T-Helferzellen, jedoch eine signifikante Zunahme der relativen und absoluten Zahlen für regulatorische FOXP3⁺ T-Zellen (Treg). Die Untersuchung von T-Helferzellen, welche das Adhäsionsmolekül α 4 β 7-Integrin für die Extravasation in den Darm exprimierten, zeigte vergleichbare Ergebnisse. Da die Rekrutierung von Treg-Zellen in den Darm durch pro-inflammatorische Botenstoffe (wie z.B. TNF) getrieben wird, ist das Verhältnis von Treg-Zellen im peripheren Blut zur Mukosa ein sensibler Marker für intestinale Inflammation (Chen et al., 2013; Mottet et al., 2003; Uhlig et al., 2006). Interessanterweise ging die Zunahme der Treg-Zellen im peripheren Blut mit einer Abnahme der Treg-Zellen in der Lamina propria des Sigmas und Rektums einher, welche durch immunhistochemische Doppelfärbungen (CD3⁺ und FOXP3⁺) identifiziert wurden. Dies deutet auf die Resolution der mukosalen Entzündung unter EET hin (Schwerd et al., 2016a). Äquivalente Änderungen im Migrationsverhalten von Treg-Zellen wurden auch für anti-TNF Biologika gezeigt (Boschetti et al., 2011; Li et al., 2015), welche mit hoher Wirksamkeit mukosale Heilung induzieren (Ruemmele et al., 2014).

Neben den immunologischen Veränderungen wurde das intestinale Mikrobiom durch 16S rRNA Gen-Analysen in seriellen Stuhlproben untersucht, welche vor Beginn der EET, nach zwei Wochen EET und vor Ende der EET genommen wurden. Nach zwei Wochen EET waren deutliche Änderungen in der Zusammensetzung des Darmmikrobioms nachweisbar (Schwerd et al., 2016a). EET führte zu einer Abnahme der relativen Häufigkeit gram-negativer Bakterien des Stamms *Bacteroidetes* (u.a. *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae* und *Rikenellaceae*) wohingegen es zu einer Zunahme der relativen Häufigkeiten gram-positiver Bakterien des Stamms *Firmicutes* und hier besonders der Bakterien der Familie *Christensenellaceae* kam (Schwerd et al., 2016a). Im Vergleich mit anderen Studien ergibt sich jedoch ein heterogenes Bild der EET-induzierten taxonomischen Veränderungen (Gatti et al., 2017). In dieser Arbeit wurden insgesamt 271 Operational Taxonomic Units (OTUs) identifiziert (91-164 pro Stuhlprobe), ohne einen Effekt der EET auf eine singuläre OTU zu erkennen. Einen Einfluss der EET auf die mikrobielle (Alpha-) Diversität konnte mit dem Shannon-Index für effektive Artenzahlen nicht gesehen werden. Anderen Arbeitsgruppen beobachtete jedoch eine Reduktion der mikrobiellen Diversität unter EET (Gerasimidis et al., 2014; Kaakoush et al., 2015; Quince et al., 2015). Allerdings wurden unterschiedliche Indices zur Erfassung der Diversitäten verwendet (Gatti et al., 2017). Weitere gut-konzipierte Studien sind notwendig, um die Effekte der EET auf das intestinale Mikrobiom zu verstehen.

3 Resümee und Ausblick

Das vorliegende Habilitationsprojekt beschäftigt sich mit den **drei Aspekten Pathogenese, Diagnostik und Therapie** von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED):

Im **ersten Teil** wurden bei Patienten mit seltenen monogenen Erkrankungen, welche mit einer CED assoziiert sind, Mechanismen beschrieben, die zu einer Störung der intestinalen Homöostase führen. So haben Patienten mit der lysosomalen Lipidspeicherkrankheit Niemann-Pick Typ C1 (NPC) ein erhöhtes Risiko für eine CED. Klinisch ähnelt eine NPC-assoziierte Kolitis dem Morbus Crohn (MC). Auch im Pathomechanismus findet sich eine Analogie zwischen polygenem MC und NPC-assoziiierter Kolitis, da beide Erkrankungen einen Defekt in der anti-bakteriellen Autophagie in Phagozyten aufweisen. Die Induktion der Autophagie durch Chlorpromazin resultiert in Phagozyten mit NPC-Phänotyp *in vitro* in einem effektiven zellvermittelten Abbau intrazellulärer Bakterien. In einer anderen Gruppe von Patienten wurden seltene Genvarianten in der NADPH-Oxidase 1 (NOX1) charakterisiert. Diese Oxidase wird im Kolonepithel exprimiert und bildet Superoxidanionen, welche sich in den Kolonkrypten nachweisen lassen. Mutationen in NOX1 reduzieren die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und beeinflussen möglicherweise die lokale Mikroben-Wirt-Interaktion an der epithelialen Grenzfläche. Des Weiteren wurde in diesem Teil der Arbeit ein Immundefekt beleuchtet, der die Signaltransduktion zahlreicher Zytokine der Interleukin (IL)-6 Familie (u.a. IL-6, IL-11, IL-27, Oncostatin M) betrifft. Obwohl IL-6 und weitere Zytokine dieser Familie an zahlreichen Mechanismen des mukosalen Immunsystems beteiligt sind, führt eine Mutation in *Interleukin-6-Signal-Transducer (IL6ST)* zu keiner Darmentzündung. *IL6ST* kodiert für GP130, der signaltransduzierenden Rezeptor-untereinheit der IL-6-Typ Zytokine. Folglich müssen redundante Signalwege im Zytokinnetzwerk des Mukosa-assoziierten Immunsystems existieren, die für GP130-Defekte kompensieren können. Als letzte Kohorte in diesem Teil der Arbeit wurden Patienten mit Mutationen in *Phosphatase and Tensin Homolog-Gen PTEN* aufgearbeitet und erstmals eine seltene hypomorphe *PTEN*-Mutation in homozygoter Konstellation beschrieben.

Eine CED kann das einzige Symptom einer zugrundeliegenden monogenen Erkrankung, wie z.B. einem primären Immundefekt, sein. Die Diagnose einer seltenen monogenen CED unter zahlreichen CED-Patienten stellt eine klinische Herausforderung dar. Daher wurde im **zweiten Teil** der Arbeit ein diagnostischer Algorithmus erarbeitet. Dieser spezifiziert klinische Charakteristika einer monogenen CED. Nachdem eine monogene CED meist im frühen Alter symptomatisch wird, ist der Erkrankungsbeginn in den ersten 6 Lebensjahren ein wesentliches Kennzeichen. Außerdem sind ein schwerer Verlauf, eine therapierefraktäre CED, eine familiäre Häufung, eine Infektionsanfälligkeit oder Begleiterkrankungen durch Immundysregulation (z.B. Autoimmunität, Fieber) wichtige Hinweise auf eine monogene CED. Der diagnostische Algorithmus beschreibt auch die weiteren Schritte, welche auf genetischen und funktionellen Untersuchungen basieren, die sich gegenseitig ergänzen.

Im **dritten Teil** der Arbeit wurde auf die exklusive Ernährungstherapie (EET) beim MC eingegangen. Es wurde gezeigt, dass es durch die ausschließliche Zufuhr einer Formelnahrung zur effektiven Remissionsinduktion kommt, sich jedoch nach Beendigung der EET häufig Rezidive einstellen. Pathomechanistisch wurde eine EET mit einer Reduktion der Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine durch Monozyten und Lymphozyten, einem Anstieg regulatorischer T-Zellen im peripheren Blut (bei gleichzeitiger Abnahme in der Lamina propria) und Veränderungen in der Mikrobiomkomposition in Verbindung gebracht. Basierend auf den beobachteten mikrobiellen Veränderungen unter EET werden nun weiterführende Untersuchungen zum Mikrobiom und der Interaktion mit dem Immunsystem bei pädiatrischen MC Patienten durchgeführt. Ziel dieser Untersuchungen ist es, zu verstehen, in wie fern Änderungen in der Zusammensetzung oder der Funktion des Mikrobioms für die Effektivität der EET verantwortlich sind. Da das Mikrobiom bei CED-Patienten Veränderungen im Sinne einer Dysbiose aufweist, sollen diese Erkenntnisse neue Therapien ermöglichen, welche direkt oder über die Ernährung das Darmmikrobiom beeinflussen, um langfristige Remission einer CED zu erreichen.

4 Literaturverzeichnis

- Aguilar, C., C. Lenoir, N. Lambert, *et al.* Characterization of Crohn disease in X-linked inhibitor of apoptosis-deficient male patients and female symptomatic carriers. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:1131-1141 e1139.
- Aloi, M., G. D'Arcangelo, F. Pofi, *et al.* Presenting features and disease course of pediatric ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2013;7:e509-515.
- Bedard, K., and K.H. Krause. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2007;87:245-313.
- Benchimol, E.I., D.G. Manuel, A. Guttman, *et al.* Changing age demographics of inflammatory bowel disease in Ontario, Canada: a population-based cohort study of epidemiology trends. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:1761-1769.
- Borrelli, O., L. Cordischi, M. Cirulli, *et al.* Polymeric diet alone versus corticosteroids in the treatment of active pediatric Crohn's disease: a randomized controlled open-label trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:744-753.
- Boschetti, G., S. Nancey, F. Sardi, X. Roblin, B. Flourie, and D. Kaiserlian. Therapy with anti-TNFalpha antibody enhances number and function of Foxp3(+) regulatory T cells in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:160-170.
- Breton, J., A. Kastl, N. Hoffmann, *et al.* Efficacy of Combination Antibiotic Therapy for Refractory Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2019.
- Browning, M.J., A. Chandra, V. Carbonaro, K. Okkenhaug, and J. Barwell. Cowden's syndrome with immunodeficiency. *J Med Genet* 2015;52:856-859.
- Buchanan, E., W.W. Gaunt, T. Cardigan, V. Garrick, P. McGrogan, and R.K. Russell. The use of exclusive enteral nutrition for induction of remission in children with Crohn's disease demonstrates that disease phenotype does not influence clinical remission. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:501-507.
- Buderus, S., D. Scholz, R. Behrens, *et al.* Inflammatory bowel disease in pediatric patients: Characteristics of newly diagnosed patients from the CEDATA-GPGE Registry. *Dtsch Arztebl Int* 2015;112:121-127.
- Cameron, F.L., K. Gerasimidis, A. Papangelou, *et al.* Clinical progress in the two years following a course of exclusive enteral nutrition in 109 paediatric patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:622-629.
- Carroll, M.W., M.E. Kuenzig, D.R. Mack, *et al.* The Impact of Inflammatory Bowel Disease in Canada 2018: Children and Adolescents with IBD. *J Can Assoc Gastroenterol* 2019;2:S49-S67.
- Chen, H.H., N. Händel, J. Ngeow, *et al.* Immune dysregulation in patients with PTEN hamartoma tumor syndrome: Analysis of FOXP3 regulatory T cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2017;139:607-620.e615.
- Chen, X., X. Wu, Q. Zhou, O.M. Howard, M.G. Netea, and J.J. Oppenheim. TNFR2 is critical for the stabilization of the CD4+Foxp3+ regulatory T cell phenotype in the inflammatory environment. *J Immunol* 2013;190:1076-1084.
- Chu, F.F., R.S. Esworthy, J.H. Doroshov, and B. Shen. NADPH oxidase-1 deficiency offers little protection in Salmonella typhimurium-induced typhlitis in mice. *World J Gastroenterol* 2016;22:10158-10165.
- Coant, N., S. Ben Mkaddem, E. Pedruzzi, *et al.* NADPH oxidase 1 modulates WNT and NOTCH1 signaling to control the fate of proliferative progenitor cells in the colon. *Mol Cell Biol* 2010;30:2636-2650.
- Cohen-Dolev, N., M. Sladek, S. Hussey, *et al.* Differences in Outcomes Over Time With Exclusive Enteral Nutrition Compared With Steroids in Children With Mild to Moderate Crohn's Disease: Results From the GROWTH CD Study. *J Crohns Colitis* 2018;12:306-312.
- Cooney, R., J. Baker, O. Brain, *et al.* NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nature Medicine* 2009;16:90.
- D'Haens, G.R., K. Geboes, M. Peeters, F. Baert, F. Penninckx, and P. Rutgeerts. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterol* 1998;114:262-267.
- Damgaard, R.B., B.K. Fiil, C. Speckmann, *et al.* Disease-causing mutations in the XIAP BIR2 domain impair NOD2-dependent immune signalling. *EMBO Mol Med* 2013;5:1278-1295.

- Damgaard, Rune B., U. Nachbur, M. Yabal, *et al.* The Ubiquitin Ligase XIAP Recruits LUBAC for NOD2 Signaling in Inflammation and Innate Immunity. *Molecular Cell* 2012;46:746-758.
- Day, A.S., K.E. Whitten, D.A. Lemberg, *et al.* Exclusive enteral feeding as primary therapy for Crohn's disease in Australian children and adolescents: a feasible and effective approach. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:1609-1614.
- de Lange, K.M., L. Moutsianas, J.C. Lee, *et al.* Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2017;49:256-261.
- Driessen, G.J., H. Ijspeert, M. Wentink, *et al.* Increased PI3K/Akt activity and deregulated humoral immune response in human PTEN deficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016;138:1744-1747.e1745.
- Dziechciarz, P., A. Horvath, R. Shamir, and H. Szajewska. Meta-analysis: enteral nutrition in active Crohn's disease in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:795-806.
- Engelhardt, K.R., N. Shah, I. Faizura-Yeop, *et al.* Clinical outcome in IL-10- and IL-10 receptor-deficient patients with or without hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:825-830.
- Faiman, A., M. Mutalib, A. Moylan, *et al.* Standard versus rapid food reintroduction after exclusive enteral nutritional therapy in paediatric Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26:276-281.
- Fiskerstrand, T., N. Arshad, B.I. Haukanes, *et al.* Familial diarrhea syndrome caused by an activating GUCY2C mutation. *N Engl J Med* 2012;366:1586-1595.
- Friedrich, M., M. Pohin, and F. Powrie. Cytokine Networks in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Immunity* 2019;50:992-1006.
- Frivolt, K., T. Schwerd, K.J. Werkstetter, *et al.* Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:1398-1407.
- Fung, T.C., N.J. Bessman, M.R. Hepworth, *et al.* Lymphoid-Tissue-Resident Commensal Bacteria Promote Members of the IL-10 Cytokine Family to Establish Mutualism. *Immunity* 2016;44:634-646.
- Gatti, S., T. Galeazzi, E. Franceschini, *et al.* Effects of the Exclusive Enteral Nutrition on the Microbiota Profile of Patients with Crohn's Disease: A Systematic Review. *Nutrients* 2017;9.
- Gerasimidis, K., M. Bertz, L. Hanske, *et al.* Decline in presumptively protective gut bacterial species and metabolites are paradoxically associated with disease improvement in pediatric Crohn's disease during enteral nutrition. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:861-871.
- Gevers, D., S. Kugathasan, L.A. Denson, *et al.* The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2014;15:382-392.
- Glocker, E.-O., D. Kotlarz, K. Boztug, *et al.* Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. *New England Journal of Medicine* 2009;361:2033-2045.
- Gower-Rousseau, C., L. Dauchet, G. Vernier-Massouille, *et al.* The natural history of pediatric ulcerative colitis: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2009;104:2080-2088.
- Grimbacher, B., S.M. Holland, J.I. Gallin, *et al.* Hyper-IgE syndrome with recurrent infections--an autosomal dominant multisystem disorder. *N Engl J Med* 1999;340:692-702.
- Grimbacher, B., S.M. Holland, and J.M. Puck. Hyper-IgE syndromes. *Immunol Rev* 2005;203:244-250.
- Grogan, J.L., D.H. Casson, A. Terry, G.C. Burdge, W. El-Matary, and A.M. Dalzell. Enteral feeding therapy for newly diagnosed pediatric Crohn's disease: a double-blind randomized controlled trial with two years follow-up. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:246-253.
- Halme, L., P. Paavola-Sakki, U. Turunen, M. Lappalainen, M. Farkkila, and K. Kontula. Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006;12:3668-3672.
- Hayes, P., S. Dhillon, K. O'Neill, *et al.* Defects in NADPH Oxidase Genes NOX1 and DUOX2 in Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2015;1:489-502.
- Heindl, M., N. Händel, J. Ngeow, *et al.* Autoimmunity, Intestinal Lymphoid Hyperplasia, and Defects in Mucosal B-Cell Homeostasis in Patients With PTEN Hamartoma Tumor Syndrome. *Gastroenterology* 2012;142:1093-1096.e1096.
- Heuschkel, R.B., C.C. Menache, J.T. Megerian, and A.E. Baird. Enteral nutrition and corticosteroids in the treatment of acute Crohn's disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:8-15.

- Hojsak, I., A.M. Pavic, Z. Misak, and S. Kolacek. Risk factors for relapse and surgery rate in children with Crohn's disease. *Eur J Pediatr* 2014;173:617-621.
- Holland, S.M., F.R. DeLeo, H.Z. Elloumi, *et al.* STAT3 mutations in the hyper-IgE syndrome. *N Engl J Med* 2007;357:1608-1619.
- Homer, C.R., A.L. Richmond, N.A. Rebert, J.P. Achkar, and C. McDonald. ATG16L1 and NOD2 interact in an autophagy-dependent antibacterial pathway implicated in Crohn's disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2010;139:1630-1641, 1641 e1631-1632.
- Hopkins, B.D., C. Hodakoski, D. Barrows, S.M. Mense, and R.E. Parsons. PTEN function: the long and the short of it. *Trends in Biochemical Sciences* 2014;39:183-190.
- Hugot, J.P., M. Chamaillard, H. Zouali, *et al.* Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:599-603.
- Hunter, C.A., and S.A. Jones. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology* 2015;16:448.
- Imielinski, M., R.N. Baldassano, A. Griffiths, *et al.* Common variants at five new loci associated with early-onset inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2009;41:1335-1340.
- Israeli, E., J.D. Ryan, L.A. Shafer, and C.N. Bernstein. Younger age at diagnosis is associated with panenteric, but not more aggressive, Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:72-79 e71.
- Janecke, A.R., P. Heinz-Erian, J. Yin, *et al.* Reduced sodium/proton exchanger NHE3 activity causes congenital sodium diarrhea. *Hum Mol Genet* 2015;24:6614-6623.
- Janowitz, H.D., E.C. Croen, and D.B. Sachar. The role of the fecal stream in Crohn's disease: an historical and analytic review. *Inflamm Bowel Dis* 1998;4:29-39.
- Jones, R.M., and A.S. Neish. Redox signaling mediated by the gut microbiota. *Free Radic Biol Med* 2017;105:41-47.
- Jostins, L., S. Ripke, R.K. Weersma, *et al.* Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012;491:119-124.
- Kaakoush, N.O., A.S. Day, S.T. Leach, D.A. Lemberg, S. Nielsen, and H.M. Mitchell. Effect of exclusive enteral nutrition on the microbiota of children with newly diagnosed Crohn's disease. *Clin Transl Gastroenterol* 2015;6:e71.
- Kammermeier, J., S. Drury, C.T. James, *et al.* Targeted gene panel sequencing in children with very early onset inflammatory bowel disease--evaluation and prospective analysis. *J Med Genet* 2014;51:748-755.
- Kaplan, G.G. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015.
- Kaplan, G.G., and S.C. Ng. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2017;152:313-321 e312.
- Keupp, K., Y. Li, I. Vargel, *et al.* Mutations in the interleukin receptor IL11RA cause autosomal recessive Crouzon-like craniosynostosis. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2013;1:223-237.
- Khor, B., A. Gardet, and R.J. Xavier. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:307-317.
- Knight, C., W. El-Matary, C. Spray, and B.K. Sandhu. Long-term outcome of nutritional therapy in paediatric Crohn's disease. *Clin Nutr* 2005;24:775-779.
- Kotlarz, D., R. Beier, D. Murugan, *et al.* Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology* 2012;143:347-355.
- Kugathasan, S., R.N. Baldassano, J.P. Bradfield, *et al.* Loci on 20q13 and 21q22 are associated with pediatric-onset inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2008;40:1211-1215.
- Kuhn, K.A., H.M. Schulz, E.H. Regner, *et al.* Bacteroidales recruit IL-6-producing intraepithelial lymphocytes in the colon to promote barrier integrity. *Mucosal Immunology* 2017;11:357.
- Lambert, B., D.A. Lemberg, S.T. Leach, and A.S. Day. Longer-term outcomes of nutritional management of Crohn's disease in children. *Dig Dis Sci* 2012;57:2171-2177.
- Lambeth, J.D. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol* 2004;4:181-189.
- Lassen, K.G., and R.J. Xavier. Mechanisms and function of autophagy in intestinal disease. *Autophagy* 2018;14:216-220.

- Lee, D., R.N. Baldassano, A.R. Otley, *et al.* Comparative Effectiveness of Nutritional and Biological Therapy in North American Children with Active Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:1786-1793.
- Levine, A., A. Griffiths, J. Markowitz, *et al.* Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:1314-1321.
- Levine, A., S. Koletzko, D. Turner, *et al.* ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014a;58:795-806.
- Levine, A., M. Kori, J. Kierkus, *et al.* Azithromycin and metronidazole versus metronidazole-based therapy for the induction of remission in mild to moderate paediatric Crohn's disease : a randomised controlled trial. *Gut* 2019a;68:239-247.
- Levine, A., D. Turner, T. Pfeffer Gik, *et al.* Comparison of outcomes parameters for induction of remission in new onset pediatric Crohn's disease: evaluation of the porto IBD group "growth relapse and outcomes with therapy" (GROWTH CD) study. *Inflamm Bowel Dis* 2014b;20:278-285.
- Levine, A., E. Wine, A. Assa, *et al.* Crohn's Disease Exclusion Diet Plus Partial Enteral Nutrition Induces Sustained Remission in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2019b.
- Levine, A.P., N. Pontikos, E.R. Schiff, *et al.* Genetic Complexity of Crohn's Disease in Two Large Ashkenazi Jewish Families. *Gastroenterology* 2016;151:698-709.
- Li, Q., C.H. Lee, L.A. Peters, *et al.* Variants in TRIM22 That Affect NOD2 Signaling Are Associated With Very-Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2016;150:1196-1207.
- Li, Z., S. Vermeire, D. Bullens, *et al.* Restoration of Foxp3+ Regulatory T-cell Subsets and Foxp3- Type 1 Regulatory-like T Cells in Inflammatory Bowel Diseases During Anti-tumor Necrosis Factor Therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:2418-2428.
- Liu, J.Z., S. van Sommeren, H. Huang, *et al.* Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nat Genet* 2015;47:979-986.
- Logan, M., C.M. Clark, U.Z. Ijaz, *et al.* The reduction of faecal calprotectin during exclusive enteral nutrition is lost rapidly after food re-introduction. *Aliment Pharmacol Ther* 2019.
- Maloy, K.J., and F. Powrie. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:298-306.
- McGovern, D.P., S. Kugathasan, and J.H. Cho. Genetics of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2015;149:1163-1176 e1162.
- Mester, J., and C. Eng. When Overgrowth Bumps Into Cancer: The PTEN-Opathies. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* 2013;163:114-121.
- Miele, E., R. Shamir, M. Aloï, *et al.* Nutrition in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper on Behalf of the Porto Inflammatory Bowel Disease Group of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018;66:687-708.
- Minegishi, Y., and M. Saito. Molecular mechanisms of the immunological abnormalities in hyper-IgE syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2011;1246:34-40.
- Minegishi, Y., M. Saito, S. Tsuchiya, *et al.* Dominant-negative mutations in the DNA-binding domain of STAT3 cause hyper-IgE syndrome. *Nature* 2007;448:1058-1062.
- Mottet, C., H.H. Uhlig, and F. Powrie. Cutting edge: cure of colitis by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2003;170:3939-3943.
- Muller, T., I. Rasool, P. Heinz-Erian, *et al.* Congenital secretory diarrhoea caused by activating germline mutations in GUCY2C. *Gut* 2016;65:1306-1313.
- Ng, S.C., H.Y. Shi, N. Hamidi, *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet* 2018;390:2769-2778.
- Nieminen, P., N.V. Morgan, A.L. Fenwick, *et al.* Inactivation of IL11 signaling causes craniosynostosis, delayed tooth eruption, and supernumerary teeth. *Am J Hum Genet* 2011;89:67-81.
- Nunes-Santos, C.J., G. Uzel, and S.D. Rosenzweig. PI3K pathway defects leading to immunodeficiency and immune dysregulation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2019;143:1676-1687.
- O'Shea, J.J., and R. Plenge. JAK and STAT signaling molecules in immunoregulation and immune-mediated disease. *Immunity* 2012;36:542-550.

- Okkenhaug, K. Signaling by the Phosphoinositide 3-Kinase Family in Immune Cells. *Annual Review of Immunology* 2013;31:675-704.
- Pastorelli, L., C. De Salvo, J.R. Mercado, M. Vecchi, and T.T. Pizarro. Central role of the gut epithelial barrier in the pathogenesis of chronic intestinal inflammation: lessons learned from animal models and human genetics. *Front Immunol* 2013;4:280.
- Patel, K.K., H. Miyoshi, W.L. Beatty, *et al.* Autophagy proteins control goblet cell function by potentiating reactive oxygen species production. *EMBO J* 2013;32:3130-3144.
- Peyrin-Biroulet, L., W. Sandborn, B.E. Sands, *et al.* Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target. *Am J Gastroenterol* 2015;110:1324-1338.
- Pigneur, B., P. Lepage, S. Mondot, *et al.* Mucosal healing and bacterial composition in response to enteral nutrition versus steroid based induction therapy - a randomized prospective clinical trial in children with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2018.
- Quaranta, M., R. Wilson, E. Goncalves Serra, *et al.* Consequences of Identifying XIAP Deficiency in an Adult Patient With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2018;155:231-234.
- Quince, C., U.Z. Ijaz, N. Loman, *et al.* Extensive Modulation of the Fecal Metagenome in Children With Crohn's Disease During Exclusive Enteral Nutrition. *Am J Gastroenterol* 2015;110:1718-1729; quiz 1730.
- Rodrigues, A.F., T. Johnson, P. Davies, and M.S. Murphy. Does polymeric formula improve adherence to liquid diet therapy in children with active Crohn's disease? *Arch Dis Child* 2007;92:767-770.
- Rubio, A., B. Pigneur, H. Garnier-Lengline, *et al.* The efficacy of exclusive nutritional therapy in paediatric Crohn's disease, comparing fractionated oral vs. continuous enteral feeding. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:1332-1339.
- Ruemmele, F.M., G. Veres, K.L. Kolho, *et al.* Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2014;8:1179-1207.
- Rutgeerts, P., K. Goboos, M. Peeters, *et al.* Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum. *Lancet* 1991;338:771-774.
- Sanderson, I.R. Growth problems in children with IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:601-610.
- Schaubeck, M., T. Clavel, J. Calasan, *et al.* Dysbiotic gut microbiota causes transmissible Crohn's disease-like ileitis independent of failure in antimicrobial defence. *Gut* 2016;65:225-237.
- Schwerd, T., R.V. Bryant, S. Pandey, *et al.* NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease. *Mucosal Immunol* 2018;11:562-574.
- Schwerd, T., K. Frivolt, T. Clavel, *et al.* Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation. *J Allergy Clin Immunol* 2016a;138:592-596.
- Schwerd, T., A.V. Khaled, M. Schurmann, *et al.* A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome. *Eur J Hum Genet* 2016b;24:889-894.
- Schwerd, T., and S. Koletzko. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:257-270.
- Schwerd, T., and S. Koletzko. Darmmikrobiom und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2019;167:420-425.
- Schwerd, T., S. Pandey, H.T. Yang, *et al.* Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease. *Gut* 2017a;66:1060-1073.
- Schwerd, T., S.R.F. Twigg, D. Aschenbrenner, *et al.* A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis. *J Exp Med* 2017b;214:2547-2562.
- Schwerd, T., and H.H. Uhlig. Chronisch-entzündliche Darmerkrankung und Immundefekte. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:1092-1101.
- Shahin, T., D. Aschenbrenner, D. Cagdas, *et al.* Selective loss of function variants in IL6ST cause Hyper-IgE syndrome with distinct impairments of T-cell phenotype and function. *Haematologica* 2019;104:609-621.

- Silverberg, M.S., J. Satsangi, T. Ahmad, *et al.* Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005;19 Suppl A:5A-36A.
- Sims, N.A. gp130 signaling in bone cell biology: multiple roles revealed by analysis of genetically altered mice. *Mol Cell Endocrinol* 2009;310:30-39.
- Song, M.S., L. Salmena, and P.P. Pandolfi. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2012;13:283.
- Speckmann, C., and S. Ehl. XIAP deficiency is a mendelian cause of late-onset IBD. *Gut* 2014;63:1031-1032.
- Speckmann, C., K. Lehberg, M.H. Albert, *et al.* X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) deficiency: the spectrum of presenting manifestations beyond hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Immunol* 2013;149:133-141.
- Spencer, S., S. Köstel Bal, W. Egner, *et al.* Loss of the interleukin-6 receptor causes immunodeficiency, atopy, and abnormal inflammatory responses. *The Journal of Experimental Medicine* 2019;jem.20190344.
- Stambolic, V., A. Suzuki, J.L. de la Pompa, *et al.* Negative Regulation of PKB/Akt-Dependent Cell Survival by the Tumor Suppressor PTEN. *Cell* 1998;95:29-39.
- Stiles, B., M. Groszer, S. Wang, J. Jiao, and H. Wu. PTENless means more. *Developmental Biology* 2004;273:175-184.
- Szanto, I., L. Rubbia-Brandt, P. Kiss, *et al.* Expression of NOX1, a superoxide-generating NADPH oxidase, in colon cancer and inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2005;207:164-176.
- Travassos, L.H., L.A.M. Carneiro, M. Ramjeet, *et al.* Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nature Immunology* 2009;11:55.
- Treton, X., E. Pedruzzi, C. Guichard, *et al.* Combined NADPH oxidase 1 and interleukin 10 deficiency induces chronic endoplasmic reticulum stress and causes ulcerative colitis-like disease in mice. *PLoS One* 2014;9:e101669.
- Tsujita, Y., K. Mitsui-Sekinaka, K. Imai, *et al.* Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase δ syndrome-like immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016;138:1672-1680.e1610.
- Turner, D., A.M. Griffiths, T.D. Walters, *et al.* Mathematical weighting of the pediatric Crohn's disease activity index (PCDAI) and comparison with its other short versions. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:55-62.
- Turner, D., F.M. Ruemmele, E. Orlanski-Meyer, *et al.* Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care- an Evidence-Based Guideline from ECCO and ESPGHAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018a.
- Turner, D., F.M. Ruemmele, E. Orlanski-Meyer, *et al.* Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 2: Acute Severe Colitis; An Evidence-based Consensus Guideline from ECCO and ESPGHAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018b.
- Turner, J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:799-809.
- Twigg, Stephen R.F., and Andrew O.M. Wilkie. A Genetic-Pathophysiological Framework for Craniosynostosis. *The American Journal of Human Genetics* 2015;97:359-377.
- Uhlig, H.H. Monogenic diseases associated with intestinal inflammation: implications for the understanding of inflammatory bowel disease. *Gut* 2013;62:1795-1805.
- Uhlig, H.H., J. Coombes, C. Mottet, *et al.* Characterization of Foxp3+CD4+CD25+ and IL-10-secreting CD4+CD25+ T cells during cure of colitis. *J Immunol* 2006;177:5852-5860.
- Uhlig, H.H., and F. Powrie. Translating Immunology into Therapeutic Concepts for Inflammatory Bowel Disease. *Annu Rev Immunol* 2018;36:755-781.
- Uhlig, H.H., and T. Schwerd. From Genes to Mechanisms: The Expanding Spectrum of Monogenic Disorders Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:202-212.
- Uhlig, H.H., T. Schwerd, S. Koletzko, *et al.* The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:990-1007 e1003.
- Van Limbergen, J., R.K. Russell, H.E. Drummond, *et al.* Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008;135:1114-1122.

- Vernier-Massouille, G., M. Balde, J. Salleron, *et al.* Natural history of pediatric Crohn's disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2008;135:1106-1113.
- Werkstetter, K.J., S.B. Pozza, B. Filipiak-Pittroff, *et al.* Long-term development of bone geometry and muscle in pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011;106:988-998.
- Werkstetter, K.J., S.B. Schatz, M. Alberer, B. Filipiak-Pittroff, and S. Koletzko. Influence of exclusive enteral nutrition therapy on bone density and geometry in newly diagnosed pediatric Crohn's disease patients. *Ann Nutr Metab* 2013;63:10-16.
- Wittig, R., L. Albers, S. Koletzko, J. Saam, and R. von Kries. Pediatric Chronic Inflammatory Bowel Disease in a German Statutory Health INSURANCE-Incidence Rates From 2009 to 2012. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019;68:244-250.
- Wright, E.K., M.A. Kamm, S.M. Teo, M. Inouye, J. Wagner, and C.D. Kirkwood. Recent advances in characterizing the gastrointestinal microbiome in Crohn's disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:1219-1228.
- Yazdanyar, S., P.R. Kamstrup, A. Tybjærg-Hansen, and B.G. Nordestgaard. Penetrance of NOD2/CARD15 genetic variants in the general population. *Canadian Medical Association Journal* 2010;182:661.
- Zeissig, Y., B.S. Petersen, S. Milutinovic, *et al.* XIAP variants in male Crohn's disease. *Gut* 2015;64:66-76.
- Zhou, L., and G.F. Sonnenberg. Essential immunologic orchestrators of intestinal homeostasis. *Science Immunology* 2018;3:eaa01605.

5 Abkürzungsverzeichnis

ATG16L1	Autophagy Related 16 Like 1
CCR6	C-C Chemokine Receptor Type 6
CED	Chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED)
CD	Cluster of Differentiation
CLC	Cardiotrophin-like cytokine
CNTF	Ciliary Neurotrophic Factor
CT1	Cardiotrophin 1
CU	Colitis ulzerosa
EET	Exklusive Ernährungstherapie
FOXP3	Forkhead-Box-Protein P3
GIT	Gastrointestinaltrakt
GNA12	G protein subunit alpha 12
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
HNF4A	Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IL	Interleukin
IRGM	Immunity Related GTPase M
IL6ST	Interleukin 6 Signal Transducer
IL23R	Interleukin 23 Receptor
JAK	Janus kinase
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
LPS	Lipopolysaccharid
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MDP	Muramyldipeptid
NADPH	Nicotinamadenindinukleotidphosphat
NOD2	Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 2
NPC	Morbus Niemann-Pick Typ C
MC	Morbus Crohn
MUC19	Mucin 19, Oligomeric
OSM	Oncostatin M
OTU	Operational Taxonomic Unit
PIP3	Phosphatidylinositol (3,4,5)-Trisphosphate
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase
RIPK2	Receptor Interacting Serine/Threonine Kinase 2
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
SZT	Stammzelltransplantation
Th	T-Helferzellen
TNF	Tumor Nekrose Faktor
Treg	Regulatorische T-Zellen
VEO-IBD	Very-early onset IBD
XBP1	X-Box Binding Protein 1

6 Vollständiges Schriftenverzeichnis

6.1 Originalarbeiten als Erstautor

- **Schwerd T**, Bryant RV, Pandey S, Capitani M, Meran L, Cazier JB, Jung J, Mondal K, Parkes M, Mathew CG, Fiedler K, McCarthy DJ, Consortium WGS, Oxford IBDdesi, investigators CiIg, Consortium UIG, Sullivan PB, Rodrigues A, Travis SPL, Moore C, Sambrook J, Ouwehand WH, Roberts DJ, Danesh J, Study I, Russell RK, Wilson DC, Kelsen JR, Cornall R, Denson LA, Kugathasan S, Knaus UG, Serra EG, Anderson CA, Duerr RH, McGovern DP, Cho J, Powrie F, Li VS, Muise AM, Uhlig HH. NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease. *Mucosal Immunol* 2018;11:562-574. doi: 10.1038/mi.2017.74.
- **Schwerd T**, Twigg SRF, Aschenbrenner D, Manrique S, Miller KA, Taylor IB, Capitani M, McGowan SJ, Sweeney E, Weber A, Chen L, Bowness P, Riordan A, Cant A, Freeman AF, Milner JD, Holland SM, Frede N, Muller M, Schmidt-Arras D, Grimbacher B, Wall SA, Jones EY, Wilkie AOM, Uhlig HH. A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis. *J Exp Med* 2017;214:2547-2562. doi: 10.1084/jem.20161810.
- **Schwerd T**, Pandey S, Yang HT, Bagola K, Jameson E, Jung J, Lachmann RH, Shah N, Patel SY, Booth C, Runz H, Duker G, Bettels R, Rohrbach M, Kugathasan S, Chapel H, Keshav S, Elkadri A, Platt N, Muise AM, Koletzko S, Xavier RJ, Marquardt T, Powrie F, Wraith JE, Gyrd-Hansen M, Platt FM, Uhlig HH. Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease. *Gut* 2017;66:1060-1073. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310382.
- **Schwerd T**, Frivolt K, Clavel T, Lagkouvardos I, Katona G, Mayr D, Uhlig HH, Haller D, Koletzko S, Bufler P. Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:592-6. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1331.
- **Schwerd T**, Khaled AV, Schurmann M, Chen H, Handel N, Reis A, Gillessen-Kaesbach G, Uhlig HH, Abou Jamra R. A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome. *Eur J Hum Genet* 2016;24:889-94. doi: 10.1038/ejhg.2015.209.
- Frivolt K*, **Schwerd T***, Werkstetter KJ, Schwarzer A, Schatz SB, Bufler P, Koletzko S. Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:1398-407. doi: 10.1111/apt.12770. (*equal contribution)
- Schmidt A*, **Schwerd T***, Hamm W,* Hellmuth JC, Cui S, Wenzel M, Hoffmann FS, Michallet MC, Besch R, Hopfner KP, Endres S, Rothenfusser S. 5'-triphosphate RNA requires base-paired structures to activate antiviral signaling via RIG-I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:12067-72. doi: 10.1073/pnas.0900971106. (*equal contribution)

6.2 Originalarbeiten als Koautor

- Shahin T, Aschenbrenner D, Cagdas D, Bal SK, Conde CD, Garnarcz W, Medgyesi D, **Schwerd T**, Karaatmaca B, Cetinkaya PG, Esenboga S, Twigg SRF, Cant A, Wilkie AOM, Tezcan I, Uhlig HH, Boztug K. Selective loss of function variants in IL6ST cause Hyper-IgE syndrome with distinct impairments of T-cell phenotype and function. *Haematologica* 2019;104:609-621. doi: 10.3324/haematol.2018.194233.

- Quaranta M, Wilson R, Goncalves Serra E, Pandey S, **Schwerd T**, Gilmour K, Klenerman P, Powrie F, Keshav S, Travis SPL, Anderson CA, Uhlig HH. Consequences of Identifying XIAP Deficiency in an Adult Patient With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2018;155:231-234. doi: 10.1053/j.gastro.2018.03.069.
- Frivolt K, **Schwerd T**, Schatz SB, Freudenberg F, Prell C, Werkstetter KJ, Bufler P, Koletzko S. Hyperadiponectinemia During Infliximab Induction Therapy in Pediatric Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018;66:915-919. doi: 10.1097/MPG.0000000000001876.
- Frivolt K, Hetterich H, **Schwerd T**, Hajji MS, Bufler P, Coppenrath E, Koletzko S. Increase of Intra-abdominal Adipose Tissue in Pediatric Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;65:633-638. doi: 10.1097/MPG.0000000000001593.
- Riffelmacher T, Clarke A, Richter FC, Stranks A, Pandey S, Danielli S, Hublitz P, Yu Z, Johnson E, **Schwerd T**, McCullagh J, Uhlig H, Jacobsen SEW, Simon AK. Autophagy-Dependent Generation of Free Fatty Acids Is Critical for Normal Neutrophil Differentiation. *Immunity* 2017;47:466-480 e5. doi: 10.1016/j.immuni.2017.08.005.
- Li Q, Lee CH, Peters LA, Mastropaolo LA, Thoeni C, Elkadri A, **Schwerd T**, Zhu J, Zhang B, Zhao Y, Hao K, Dinarzo A, Hoffman G, Kidd BA, Murchie R, Al Adham Z, Guo C, Kotlarz D, Cutz E, Walters TD, Shouval DS, Curran M, Dobrin R, Brodmerkel C, Snapper SB, Klein C, Brumell JH, Hu M, Nanan R, Snanter-Nanan B, Wong M, Le Deist F, Haddad E, Roifman CM, Deslandres C, Griffiths AM, Gaskin KJ, Uhlig HH, Schadt EE, Muise AM. Variants in TRIM22 That Affect NOD2 Signaling Are Associated With Very-Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2016;150:1196-1207. doi: 10.1053/j.gastro.2016.01.031.
- Canning P, Ruan Q, **Schwerd T**, Hrdinka M, Maki JL, Saleh D, Suebsuwong C, Ray S, Brennan PE, Cuny GD, Uhlig HH, Gyrd-Hansen M, Degtarev A, Bullock AN. Inflammatory Signaling by NOD-RIPK2 Is Inhibited by Clinically Relevant Type II Kinase Inhibitors. *Chem Biol* 2015;22:1174-84. doi: 10.1016/j.chembiol.2015.07.017.
- Aguilar C, Lenoir C, Lambert N, Begue B, Brousse N, Canioni D, Berrebi D, Roy M, Gerart S, Chapel H, **Schwerd T**, Siproudhis L, Schappi M, Al-Ahmari A, Mori M, Yamaide A, Galicier L, Neven B, Routes J, Uhlig HH, Koletzko S, Patel S, Kanegane H, Picard C, Fischer A, Bensussan NC, Ruemmele F, Hugot JP, Latour S. Characterization of Crohn disease in X-linked inhibitor of apoptosis-deficient male patients and female symptomatic carriers. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:1131-41 e9. doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.031.
- Weidlich S, Bulau AM, **Schwerd T**, Althans J, Kappler R, Koletzko S, Mayr D, Bufler P. Intestinal expression of the anti-inflammatory interleukin-1 homologue IL-37 in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59:e18-26. doi: 10.1097/MPG.0000000000000387.
- Bulau AM, Nold MF, Li S, Nold-Petry CA, Fink M, Mansell A, **Schwerd T**, Hong J, Rubartelli A, Dinarello CA, Bufler P. Role of caspase-1 in nuclear translocation of IL-37, release of the cytokine, and IL-37 inhibition of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:2650-5. doi: 10.1073/pnas.1324140111.
- Anz D, Koelzer VH, Moder S, Thaler R, **Schwerd T**, Lahl K, Sparwasser T, Besch R, Poeck H, Hornung V, Hartmann G, Rothenfusser S, Bourquin C, Endres S. Immunostimulatory RNA blocks suppression by regulatory T cells. *J Immunol* 2010;184:939-46. doi: 10.4049/jimmunol.0901245.
- Poeck H, Besch R, Maihoefer C, Renn M, Tormo D, Morskaya SS, Kirschnek S, Gaffal E, Landsberg J, Hellmuth J, Schmidt A, Anz D, Bscheider M, **Schwerd T**, Berking C, Bourquin C, Kalinke U, Kremmer E, Kato H, Akira S, Meyers R, Hacker G, Neuenhahn M, Busch D,

Ruland J, Rothenfusser S, Prinz M, Hornung V, Endres S, Tuting T, Hartmann G. 5'-Triphosphate-siRNA: turning gene silencing and Rig-I activation against melanoma. *Nat Med* 2008;14:1256-63. doi: 10.1038/nm.1887.

6.3 Übersichtsartikel

- **Schwerd T**, Koletzko S. Darmmikrobiom und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2019;167:420-425. doi: 10.1007/s00112-019-0683-7.
- Davidovics ZH, Michail S, Nicholson MR, Kociolek LK, Pai N, Hansen R, **Schwerd T**, Maspons A, Shamir R, Szajewska H, Thapar N, de Meij T, Mosca A, Vandenplas Y, Kahn SA, Kellermayer R, and the Fmt Special Interest Group of the North American Society of Pediatric Gastroenterology Hepatology NtESfPGHN. Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent Clostridium difficile Infection and Other Conditions in Children: A Joint Position Paper From the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019;68:130-143. doi: 10.1097/MPG.0000000000002205.
- **Schwerd T**, Uhlig HH. Chronisch-entzündliche Darmerkrankung und Immundefekte. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:1092-1101. doi: 10.1007/s00112-017-0393-y.
- **Schwerd T**, Bufler P. [Abdominal pain in children: Rational diagnostics in the outpatient department]. *MMW Fortschr Med* 2017;159:60-66. doi: 10.1007/s15006-017-9952-3.
- **Schwerd T**, Koletzko S. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:257-270. doi: 10.1007/s00112-017-0243-y.
- Uhlig HH, **Schwerd T**. From Genes to Mechanisms: The Expanding Spectrum of Monogenic Disorders Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:202-12. doi: 10.1097/MIB.0000000000000614.
- Uhlig HH, **Schwerd T**, Koletzko S, Shah N, Kammermeier J, Elkadri A, Ouahed J, Wilson DC, Travis SP, Turner D, Klein C, Snapper SB, Muise AM, Group CiIS, Neopics. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:990-1007 e3. doi: 10.1053/j.gastro.2014.07.023.

7 Originalarbeiten der kumulativen Habilitationsschrift

Teil 1: Monogenetische CED und weitere primäre Immundefekte als Modellerkrankungen für das Verständnis des mukosalen Immunsystems

Schwerd T, Pandey S, Yang HT *et al.* Impaired antibacterial autophagy links granulomatous intestinal inflammation in Niemann-Pick disease type C1 and XIAP deficiency with NOD2 variants in Crohn's disease. *Gut* 2017;66:1060-1073. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310382.

Schwerd T, Bryant RV, Pandey S *et al.* NOX1 loss-of-function genetic variants in patients with inflammatory bowel disease. *Mucosal Immunol* 2018;11:562-574. doi: 10.1038/mi.2017.74.

Schwerd T, Twigg SRF, Aschenbrenner D *et al.* A biallelic mutation in IL6ST encoding the GP130 co-receptor causes immunodeficiency and craniosynostosis. *J Exp Med* 2017;214:2547-2562. doi: 10.1084/jem.20161810.

Schwerd T, Khaled AV, Schurmann M *et al.* A recessive form of extreme macrocephaly and mild intellectual disability complements the spectrum of PTEN hamartoma tumour syndrome. *Eur J Hum Genet* 2016;24:889-94. doi: 10.1038/ejhg.2015.209.

Teil 2: Diagnostischer Algorithmus zur Identifikation monogenetischer Formen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung

Uhlig HH, **Schwerd T**, Koletzko S *et al.* The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:990-1007 e3. doi: 10.1053/j.gastro.2014.07.023.

Uhlig HH, **Schwerd T**. From Genes to Mechanisms: The Expanding Spectrum of Monogenic Disorders Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:202-12. doi: 10.1097/MIB.0000000000000614.

Schwerd T, Koletzko S. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:257-270. doi: 10.1007/s00112-017-0243-y.

Schwerd T, Uhlig HH. Chronisch-entzündliche Darmerkrankung und Immundefekte. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017;165:1092-1101. doi: 10.1007/s00112-017-0393-y.

Teil 3: Exklusive Ernährungstherapie (EET) bei pädiatrischem Morbus Crohn: Klinische Effektivität und Wirkmechanismen

Frivolt K*, **Schwerd T***, Werkstetter KJ *et al.* Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:1398-407. doi: 10.1111/apt.12770. (*both authors contributed equally)

Schwerd T, Frivolt K, Clavel T *et al.* Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:592-6. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1331.