

P. Lamprecht

## Das kryoglobulinämische Syndrom

### Bericht vom Workshop zur Klassifikation und der 10. Tagung der italienischen Gesellschaft zur Behandlung der Kryoglobulinämie, Modena, 29. 9. 2003

**The cryoglobulinemic syndrome –  
Report from the workshop on  
classification and on the 10th  
conference of the Italian Society for  
the treatment of Cryoglobulinemia,  
Modena, 29. Sept. 2003**

■ **Zusammenfassung** Der Tagung ging ein Treffen einer neu initiierten Expertengruppe mit dem Ziel einer Evaluierung, Testung und Erarbeitung von Klassifikationskriterien für das kryoglobulinämische Syndrom voraus. Auf der Tagung wurden die Ergebnisse verschiedener Studien zur möglichen Rolle von Infektionen, insbesondere der Hepatitis C-Virus (HCV)- und Cytomegalovirus (CMV)-Infektion, in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen vorgestellt. Eine Kreuzreaktivität von CMV-Proteinen mit verschiedenen Autoantigenen könnte bei der systemischen Sklerose im Zusammenhang mit der initialen Endothelzellschädigung stehen. Bei der Induktion des Kryoglobulinämie-Syndroms sind eine Reihe von Immunmechanismen von Bedeutung wie die Bildung kreuzreaktiver Antikörper, eine chronische B-Zell-Stimulation, eine Interaktion des HCV-Core-Proteins mit Tumorsuppressor Genen wie p53 und/oder Proto-Onkogenen und eine t(14;18) Translokation mit Bcl-2-Aktivierung und verlängerter Überlebenszeit von B-Zellen.

■ **Summary** The conference was preceded by a workshop of an European expert group on the

■ evaluation, testing, and work-up of a new classification for cryoglobulinemic syndrome. Several studies on the potential role of infections, especially hepatitis C virus (HCV) and cytomegalovirus (CMV), in the pathogenesis of human autoimmune diseases were presented and discussed at the conference. A cross-reactivity between CMV proteins and different auto-antigens could play a role with respect to the initial endothelial damage in the pathogenesis of systemic sclerosis. A number of immune mechanisms may be involved in the induction of the cryoglobulinemic syndrome such as the formation of cross-reacting antibodies, chronic B-cell stimulation, an interaction between the HCV core protein and tumor suppressor genes p53 and/or proto-oncogenes, and the t(14;18) translocation with bcl-2 activation and prolonged B-cell survival.

■ **Schlüsselwörter**  
Kryoglobulinämisches Syndrom –  
Hepatitis-C-Virus –  
Autoantikörper – B-Zelle

■ **Key words**  
Cryoglobulinemic syndrome –  
hepatitis C virus –  
autoantibody – B-cell

---

Dr. med. Peter Lamprecht (✉)  
Poliklinik für Rheumatologie  
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck  
und Rheumaklinik Bad Bramstedt  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck, Germany  
Tel.: 04 51 / 500-23 68  
Fax: 04 51 / 5 00-36 50  
E-Mail: lamprecht@rheuma-zentrum.de

## Workshop zu den Klassifikationskriterien der gemischten Kryoglobulinämie

Der 10. Tagung der Tagung der italienischen Gesellschaft zur Behandlung der Kryoglobulinämie ging ein Workshop eines europäischen Expertengremiums unter der Leitung von S. de Vita, Udine, voraus, der sich mit den Klassifikationskriterien der gemischten Kryoglobulinämie befasste. Derzeit gibt es mehrere Klassifikationskriterien, die nicht evaluiert sind. Zum einen gibt es die Klassifikationskriterien der „Gruppo Italiano per lo studio delle crioglobulinemie“ (GISC) [7], die auf frühere Arbeiten von Invernizzi et al. [3] gründen, zum anderen die von C. Ferri, Modena, vorgeschlagenen Klassifikationskriterien für das Kryoglobulinämie Syndrom (Tab. 1) [2]. Zudem gibt es die Chapel Hill Consensus (CHC) Konferenz Definition der kryoglobulinämischen Vaskulitis als Immunkomplex-Vaskulitis vorwiegend kleiner Gefäße beim Vorliegen einer gemischten Kryoglobulinämie [4]. Vor dem Hintergrund der verschiedenen Klassifikationskriterien und der uneinheitlichen Sprachregelung in Bezug auf die symptomatische gemischte Kryoglobulinämie, kryoglobulinämische Vaskulitis und das Kryoglobulinämie-Syndrom soll nunmehr in Anlehnung an das Vorgehen der europäischen Studiengruppe bei den Klassifikationskriterien des primären Sjögren-Syndroms [9] zunächst ein Fragenkatalog in Bezug auf klinische Symptome in verschiedenen euro-

**Tab. 1** Klassifikationskriterien der gemischten Kryoglobulinämie der GISC (7) und nach Ferri et al. [2]. Die definitive Klassifikation eines gemischten Kryoglobulinämie-Syndroms nach Ferri et al. [2] erfordert den Nachweis einer gemischten Kryoglobulinämie, erniedrigter C4-Komplementspiegel, einer Purpura und leukozytoklastischen Vaskulitis oder zweier klinischer und serologischer Minor-kriterien. HCV = Hepatitis-C-Virus. HBV = Hepatitis-B-Virus

GISC-Kriterien [7]	Kriterien nach Ferri et al. [2]
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Symptomatische Kryoglobulinämie über mindestens 6 Monate</li> <li>■ Mindestens zwei von drei Symptomen (Purpura, Arthralgien, Leistungsminderung)</li> <li>■ Rheumafaktor und/oder erniedrigter C4-Komplementspiegel</li> <li>■ Ausschluss zugrunde liegender Autoimmunerkrankungen, lymphoproliferativer Erkrankungen und infektiöser Erkrankungen mit Ausnahme einer Hepatitis-C-Virus(HCV)-Infektion</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <i>Major-Kriterien:</i> gemischte Kryoglobulinämie, erniedrigter C4-Komplementspiegel, leukozytoklastische Vaskulitis, Purpura</li> <li>■ <i>Minor-Kriterien:</i> Rheumafaktor, HCV- oder HBV-Nachweis, klonale B-Zell-Infiltrate (Leber und/oder Knochenmark), chronische Hepatitis, membrano-proliferative Glomerulonephritis, periphere Polyneuropathie, Hautulzera</li> </ul>

päischen Zentren evaluiert werden. In einem zweiten Schritt sollen die hiernach bewährten Fragen an Patienten mit einem gemischten Kryoglobulinämie-Syndrom und Kontrollen über 1 Jahr getestet werden und nachfolgend anhand der Auswertung klinische Klassifikationskriterien für das Kryoglobulinämie-Syndrom erarbeitet werden. Die Studie soll nach Möglichkeit auch auf dem nächsten EULAR-Kongress in Berlin 2004 vorgestellt und diskutiert werden.

## 10. Tagung der italienischen Gesellschaft zur Behandlung der Kryoglobulinämie: „Kryoglobulinämisches Syndrom, Klassifikation, Pathogenese und Therapie“

Die ersten beiden Vorträge der Tagung setzten sich mit der Rolle des Cytomegalievirus (CMV) und des Parvo-B19-Virus in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen auseinander. C. Lunardi, Verona, wies auf die Bedeutung kreuzreagierender Autoantikörper in der Pathogenese der systemischen Sklerose hin. Bei 93% der Patienten mit systemischer Sklerose wurden Antikörper gegen die Peptidsequenz GGIGGAGIWLVV nachgewiesen. Dieses Peptid zeigt Sequenzhomologien zu verschiedenen Autoantigenen, z. B. Fibrillarin, und dem CMV-Protein UL94. Zudem können diese kreuzreagierenden Autoantikörper nach Bindung an  $\alpha_6\beta_1$ - oder  $\alpha_3\beta_1$ -Integrine eine Apoptose von Endothelzellen kleiner Gefäße induzieren [6]. Einer Schädigung von Endothelzellen kleiner Gefäße wird nach derzeitigen Vorstellungen eine große Bedeutung in der frühen Pathogenese der systemischen Sklerose beigemessen. Auch bei der Arteriosklerose könnte das CMV eine Rolle in der Pathogenese spielen. Die CMV-Proteine UL122 und US28 weisen Sequenzhomologien mit der humanen Heat Shock Protein-(HSP)60 Sequenz 153–164 auf. Zirkulierende HSP60-Antikörper kreuzreagieren mit Peptidsequenzen von CMV UL122 und US28, korrelieren mit der Schwere der Koronarsklerose und induzieren die Apoptose von Endothelzellen [1].

Mögliche Modifikationen von Endothelzellen, wie sie sich aufgrund von *In-vitro*-Untersuchungen kultivierter, Parvo B19 Virus infizierter Endothelzell- und Fibroblastenkulturen nachweisen lassen, könnten eine Rolle bei der Induktion von Antiphospholipid-Antikörpern spielen, wie A. Azzi, Florenz, berichtete. Zudem gibt es zahlreiche Berichte über mögliche Assoziationen von Autoimmunerkrankungen mit Parvo-B19-Virus-Infektionen, ohne dass diese bisher bewiesen wären.

C. Ferri, Modena, berichtete zum einen über extrahepatische Manifestationen der HCV-Infektion, zum anderen erläuterte er Immunmechanismen, die zum kryoglobulinämischen Syndrom mit seinen ver-

schiedenen Manifestationen der Autoimmunität und Lymphoproliferation führen:

1. Eine Kreuzreaktivität aufgrund eines molekularen Mimikry zwischen HCV-Epitopen und körpereigenen Proteinen, z.B. dem HCV-Core-Protein und humanen Cytochrom-P450-Sequenzen und einem humanen, nukleären Protein mit der Folge des Auftretens von Anti-LKM1- bzw. Anti-GOR-Autoantikörpern.
2. Eine chronischen B-Zell-Stimulation durch HCV-Antigene.
3. Die Interaktion des HCV-Envelope-Proteins E2 mit CD81 auf B-Zellen, die eine B-Zell-Aktivierung begünstigt.
4. Das Auftreten einer t(14;18) Translokation mit Bcl-2-Aktivierung und einer hieraus resultierenden verlängerten Überlebenszeit von B-Zellen. Die verlängerte Überlebenszeit begünstigt weitere genetische Aberrationen bis hin zum Übergang in ein Non-Hodgkin-Lymphom.
5. Zudem wurde eine HCV-Infektion hämatopoetischer Vorläuferzellen und gewebständiger sowie zirkulierender B-Zellen nachgewiesen. Auch wenn das HCV- als RNA-Virus nicht direkt ins Genom integriert wird, können *In-vitro*-Untersuchungen zufolge Interaktionen des HCV-Core-Proteins mit Tumorsuppressor-Genen wie p53 und/oder Proto-Onkogenen zu einer autonomen B-Zellproliferation führen, die in der Folge das Auftreten einer gemischten Kryoglobulinämie, von Autoantikörpern, der kryoglobulinämischen Vaskulitis und von B-Zell-Neoplasien begünstigt.

D. Sansonno, Bari, trug neue Ergebnisse einer molekularen Analyse gemischter Kryoglobuline vor. Das HCV-Core-Protein ist in den Kryoglobulinen konzentriert und mit Anti-Core-IgG-Antikörpern und dem (Anti-IgG-Fc-)IgM-Rheumafaktor komplexiert. Anti-Core-IgG-Antikörper können an C1q-Rezeptoren auf der Zelloberfläche endothelialer Zellen und neutrophiler Granulozyten binden und könnten so zur Induktion der kryoglobulinämischen Immunkomplex-Vaskulitis führen. Die Analyse des Schwerketten-Immunglobulin-Rearrangements von B-Zellen

von Patienten mit einem kryoglobulinämischen Syndrom zeigte, dass B-Zellen aus intrahepatischen B-Zell-Proliferaten am häufigsten oligo- oder monoklonal expandiert sind, wohingegen zirkulierende B-Zellen und B-Zellen aus dem Knochenmark weniger häufig oligo- oder monoklonal expandierende Zellproliferate aufweisen. Zusammengefasst lassen diese Untersuchungen den Schluss zu, dass intrahepatische B-Zell-Proliferate der Ausgangspunkt der Immunphänomene sind, die zum kryoglobulinämischen Syndrom führen. A.L. Zignego, Florenz, wies auf weitere Möglichkeiten, wie das HCV zu einer verlängerten Überlebenszeit von B-Zellen, genetischen Aberrationen und schließlich zu einem Non-Hodgkin Lymphom führen kann, wie z.B. Antiapoptotische Wirkungen des HCV-Core-Proteins durch eine Interaktion mit MAP-Kinasen, einer Aktivierung des NF $\kappa$ B und des Proteins Translin.

A.G. Tzioufas, Athen, wies darauf hin, dass eine Erniedrigung des C4-Komplements und eine Kryoglobulinämie mit einer ungünstigen Prognose beim primären Sjögren-Syndrom infolge eines erhöhten Risikos für lymphoproliferative Erkrankungen, einer Vaskulitis und einer Exzess-Mortalität einhergeht.

P. Cacoub, Paris, fasste die Therapiemöglichkeiten des kryoglobulinämischen Syndroms zusammen und betonte ebenso wie S. de Vita, Udine, die Notwendigkeit weiterer Therapiestudien, die den Stellenwert und die Indikation einer Anti-CD20-Therapie mit Rituximab ausloten. Erste Studienergebnisse von 15 bzw. 20 mit Rituximab (375 mg/m<sup>2</sup> i.v. wöchentlich für 4 Wochen) behandelten Patienten zeigten eine hohe Effektivität der Therapie in Bezug auf Symptome des kryoglobulinämischen Syndroms und die B-Zell-Depletion bei gleichzeitiger Verdoppelung der Viruslast [8, 10]. Ein weiterer Fallbericht weist zudem auf die Effektivität einer Anti-CD20-Therapie mit Rituximab bei therapierefraktärer HCV-assoziiierter kryoglobulinämischer Vaskulitis und Non-Hodgkin-Lymphom. Es konnte mit Rituximab eine Remission lebensbedrohlicher Vaskulitismanifestationen und des Lymphoms erreicht werden. Nach Remissionsinduktion der Vaskulitis gelang eine HCV-Elimination mit Peg-Interferon- $\alpha$  und Ribavirin [5].

## Literatur

1. Bason C et al (2003) In atherosclerosis antibodies against HSP60 bind human cytomegalovirus-derived proteins and induce apoptosis of non-stressed endothelial cells. *Lancet* (in press)
2. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA (2002) Cryoglobulins. *J Clin Pathol* 55:4-13
3. Invernizzi F, Galli M, Serino G, Monti G, Meroni PL, Granatieri C, Zanussi C (1983) Secondary and essential cryoglobulineamias: Frequency, nosological classification and long-term follow-up. *Acta Haemat* 70:73-82
4. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CGM, McCluskey RT, Sinico A, Rees AJ, van Es LA, Waldherr R, Wiik A (1994) Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 37:187-192

5. Lamprecht P, Lerin-Lozano C, Merz H, Dennin RH, Gause A, Voswinkel J, Peters SO, Gutzeit O, Arlt AC, Solbach W, Gross WL (2003) Rituximab induces remission in refractory HCV-associated cryoglobulinemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 62:1230–1233
6. Lunardi C, Bason C, Navone R, Millo E, Damonte G, Corrocher R, Puccetti A (2000) Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells. *Nat Med* 6:1183–1186
7. Monti G, Galli M, Invernizzi F, Piottelli P, Saccardo F, Monteverde A, Pietrogrande M, Renoldi P, Bombardieri S, Bordoni G, Candela M, Ferri C, Gabrielli A, Mazzaro C, Migliaresi S, Mussini C, Ossi E, Quintiliani L, Tirri G, Vacca A (1995) Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. *Q J Med* 88:115–126
8. Sansonno D, De Re V, Lauletta G, Tucci FA, Boiocchi M, Dammacco F (2003) Monoclonal antibody treatment of mixed cryoglobulinemia resistant to interferon alpha with an anti-CD20. *Blood* 101:3818–3826
9. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, Bjerrum KB, Braga S, Coll J, de Vita S et al (1993) Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European community. *Arthritis Rheum* 36:340–347
10. Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, Sacco S, Damiani D, De Marchi G, Michelutti A, Baccarani M, Fanin R, Ferraccioli G (2003) Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 101:3827–3834