

© 2019 НМИЦ ДГОИ

Поступила 10.04.2019

Принята к печати 10.06.2019

# Феномен реверсной мутации у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича

З.А. Нестеренко, Н.Б. Кузьменко, В.И. Бурлаков, Е.А. Викторова, В.А. Ведмедская, Д.Е. Першин, А.М. Киева, И.В. Мерсиянова, Т.А. Варламова, Е.В. Райкина, Е.В. Дерипапа

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) – это гетерогенные, генетически обусловленные заболевания иммунной системы. Один из генетических феноменов, влияющих на фенотипическое разнообразие ПИДС, – реверсный соматический мозаицизм (РМ), характерный для различных групп ПИДС. Чаще всего РМ встречается у пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича. Несмотря на то что РМ не всегда ведет к более легкому течению болезни, наличие этого феномена может влиять на скорость постановки диагноза, что сказывается на своевременности назначения адекватного лечения. В данной статье представлен случай пациента с синдромом Вискотта–Олдрича и реверсной мутацией в гене WAS. Родители пациентов дали согласие на использование информации о ребенке в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** синдром Вискотта–Олдрича, ген WAS, реверсная мутация, генотип, фенотип

Нестеренко З.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2019; 18 (3): 104–111. DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-104-111

## Контактная информация:

Кузьменко Наталья Борисовна, зав. отделом эпидемиологии и мониторинга иммунодефицитов, врач аллерголог-иммунолог КДО НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России. Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1 E-mail: plunge@list.ru

© 2019 by NMRC PHOI

Received 10.04.2019

Accepted 10.06.2019

## The phenomenon of reverse mutation in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome

Z.A. Nesterenko, N.B. Kuzmenko, V.I. Burlakov, E.A. Victorova, V.A. Vedmedskaya, D.E. Pershin, A.M. Kiev, I.V. Mersyanova, T.V. Varlamova, E.V. Raykina, E.V. Deripapa

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Primary immunodeficiencies (PIDS) are genetically caused heterogeneous diseases of the immune system. One of the genetic phenomenon affecting the phenotypic diversity of PIDS is a reverse somatic mosaicism (RM) observed in different groups of PIDS. The majority of RM cases are described in patients with Wiskott–Aldrich syndrome (WAS). Despite the fact that PM does not always lead to a mild form of the disease, the presence of this phenomenon can cause the delay of diagnosis and start of the appropriate treatment. This article presents the case of a patient with Wiskott–Aldrich syndrome with a reverse mutation in the WAS gene. Parents gave their consent to use information about the child in the article.

**Key words:** Wiskott–Aldrich syndrome, WAS gene, reverse mutation, genotype, phenotype

Nesterenko Z.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology, 2019; 18 (3): 104–111. DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-104-111

**Correspondence:**  
Natalia B. Kuzmenko, MD, PhD, the head of the department of epidemiology and monitoring of immunodeficiencies, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1 E-mail: plunge@list.ru

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) представляют фенотипически разнородную группу генетически обусловленных заболеваний, связанных с дефектами тех или иных компонентов иммунной системы. Фенотипическая гетерогенность ПИДС вызвана не только большим разнообразием поврежденных генов иммунной системы (описано более 300 генов) [1], но и различными генетическими феноменами, характерными для этой группы заболеваний. Например, стертая или нетипичная клиническая картина может наблюдаться в случае гипоморфных мутаций, которые приводят к частичному нарушению функции кодируемого белка, но не нарушают ее полностью [2, 3].

Другое явление, потенциально меняющее фенотип болезни, – реверсный соматический мозаицизм (РМ), описанный при различных наследственных заболеваниях, в том числе ПИДС. В результате реверсных мутаций восстанавливается дикий тип гена, поврежденного патогенной мутацией, меняется генотип клеточной популяции, и экспрессия белка этой популяцией клеток соответствует нормальным значениям. В некоторых случаях РМ становится причиной неспецифических клинических проявлений или легкого течения заболевания и может служить примером своего рода «естественной генной терапии» [4].

Под термином «мозаицизм» понимают наличие как минимум двух генетически различных популяций

соматических или герминальных клеток в организме. На протяжении жизни в соматических клетках возникает огромное количество генетических изменений, приводящих к серьезным фенотипическим проявлениям вплоть до летального исхода. Одним из механизмов, нивелирующих эти процессы, является РМ [5]. Реверсный мозаицизм возникает в результате обратных мутаций – реверсий (*back mutation*), которые непосредственно приводят к восстановлению дикого типа гена, поврежденного другой мутацией, либо в результате супрессорных мутаций (*second-site mutation*), полностью или частично подавляющих прямую мутацию [6].

Генетические изменения при реверсиях могут варьировать от однонуклеотидных замен до крупных геномных делеций. Факторы и механизмы развития такого разнообразия до конца не ясны [7]. Предполагается, что РМ возникает в результате внутригенной рекомбинации, конверсии генов, ошибок ДНК-полимеразы, приводящих к «проскальзыванию» цепей ДНК в процессе репликации, а также других дефектов репарации ДНК [8]. В большинстве случаев реверсии были обнаружены в клетках крови (как правило, лимфоидного ряда), кожи, а также нейронах, что, возможно, сопряжено со скоростью пролиферации данных клеточных популяций [4].

С конца 1980-х годов, когда реверсный мозаицизм был описан впервые, об этом явлении сообщали при различных наследственных заболеваниях: при анемии Фанкони, буллезном эпидермолизе, тирозинемии I типа, мышечной дистрофии Дюшенна, болезни Шарко–Мари–Тута и др. [9–11].

Несмотря на технические сложности в выявлении данного феномена, в последние десятилетия растет количество сообщений о реверсном мозаицизме при первичных иммунодефицитах. В 1994 году впервые был опубликован клинический случай РМ при недостаточности аденозиндезаминазы, относящейся к группе тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) [12]. За два последних десятилетия появилось большое количество сообщений о выявленных реверсиях при синдроме Вискотта–Олдрича, X-сцепленной ТКИН, дефекте адгезии лейкоцитов (LAD1), синдроме NEMO и др. [6, 7, 12–50].

По сравнению с другими ПИДС реверсный мозаицизм наиболее часто встречается при синдроме Вискотта–Олдрича (СВО); распространенность РМ составляет около 11% [6]. СВО – это моногенное заболевание с тромбоцитопенией, экземой и иммунодефицитом разной степени тяжести [51, 52], которое возникает в результате мутаций в гене *WAS* (*Wiskott–Aldrich Syndrome*), расположенном на Xp11.23 и кодирующем синтез белка WASP. На данный момент описано более 400 различных мутаций, которые случаются на протяжении всей последова-

тельности гена, однако зарегистрировано около девяти горячих точек (*hotspot region*), которые составляют примерно одну треть общего числа описанных мутаций. В зависимости от локализации и вида мутации степень выраженности клинических проявлений у пациентов может варьировать и частично коррелирует с экспрессией белка WASP [53].

Причины, обуславливающие высокую распространенность реверсий при СВО, неизвестны. Согласно одной из гипотез, высокая частота мутаций связана с повышенной склонностью последовательности гена *WAS* к ошибкам ДНК-полимеразы. До того как *T. Wada* и соавт. впервые опубликовали сообщение о случае, когда к реверсии приводила делеция 6 нуклеотидов, считалось, что РМ – следствие точечных мутаций. Согласно предположению, выдвинутому *T. Wada* и соавт., в результате большого количества повторов фрагмента нуклеотидов GC происходит их соединение с помощью комплементарных связей и образование «шпилек», которые нарушают считывание фрагмента ДНК ДНК-полимеразой, то есть приводят к «соскальзыванию» ДНК-полимеразы во время репликации, либо считыванию последовательности нуклеотидов, образующих «шпильку» [16].

Существует другая гипотеза, согласно которой нестабильность гена *WAS* в Т-хелперах (Th1) обусловлена образованием R-петель (*R-loops*). Транскрипция РНК представляет собой многоэтапный процесс, который включает в себя синтез пре-мРНК (интрон-содержащих цепей). В связи с тем, что связь ДНК/РНК более стабильна по сравнению с ДНК/ДНК, происходит гибридизация РНК с комплементарной цепью двухцепочечной ДНК, при этом вытесняется исходная цепь ДНК в виде петли, расположенной в области гибридизации, – R-петли. Этот процесс происходит при участии ферментов РНКазы, РНК/ДНК-геликазы, комплексов ТНО и SRSF1, а также топоизомеразы, которые, в свою очередь, играют решающую роль в стабилизации генома, предотвращая чрезмерное образование R-петель. Непосредственно к нестабильности генома приводит образование одно- или двухцепочечных разрывов ДНК (SSB или DSB соответственно) в результате компенсаторного расщепления R-петель. Они встречаются примерно в 5% генома человека и могут участвовать в процессах инициации и элонгации транскрипции генов, переключении классов иммуноглобулинов, репликации и репарации ДНК. В данном исследовании обнаружено, что нарушение работы топоизомеразы сопряжено с дефицитом белка WASP и, как следствие, избыточным образованием R-петель и ростом SSB или DSB. Таким образом, высокая частота реверсии в популяции СВО, возможно, связана с участием белка WASP в стабильности генома [54]. Важен тот факт, что клетки с реверсными мутациями

при СВО обладают селективным преимуществом по сравнению с мутированными популяциями [55].

В масштабном мультицентровом исследовании распространенности спонтанных генетических реверсий при СВО, подготовленном к XII встрече Европейского общества по первичным иммунодефицитам (*European Society for Immunodeficiencies – ESID*), приняло участие 40 исследовательских групп из разных стран мира. В общей сложности из 272 пациентов с подтвержденным диагнозом СВО реверсный мозаицизм был выявлен у 30 (11%). В исследовании участвовали пациенты в возрасте от 3 мес. до 43 лет. Экспрессия реверсного гена *WASP* была зарегистрирована в основном в Т-клетках (5–80%), реже – в В- и NK-лимфоцитах; в миелоидных клетках до настоящего момента случаев реверсии не обнаружено. Как правило, в реверсной популяции клеток чаще встречался один генотип, однако в нескольких случаях наблюдались множественные реверсии [6, 24–27].

По результатам оценки тяжести СВО по стандартной 5-балльной шкале, средний балл до реверсии – 4, после реверсии – 4,1. Следовательно, можно сделать вывод, что реверсные мутации не влияют на фенотип заболевания и не снижают его тяжесть. Однако, учитывая огромное разнообразие мутаций гена *WAS* и корреляцию генотип-фенотип, а также разнородность выборки, различную частоту реверсного пула клеток и отсутствие сравнения со здоровым контролем, искать корреляцию между тяжестью заболевания и возникновением реверсии не представляется возможным.

Так, в крупном исследовании *Y. Jin* и соавт. из 262 человек с СВО у двух неродственных пациентов одного возраста была обнаружена одинаковая мутация – инсерция нуклеотида А в положении 471 в 4 экзоне, приводящая к сдвигу рамки считывания и преждевременному образованию стоп-кодона. Однако у

одного из пациентов была найдена реверсия данной мутации, и его фенотип соответствовал легкому течению СВО (2 балла), а у другого, напротив, наблюдалось тяжелое течение заболевания (4 балла), что в данном случае свидетельствует о положительном влиянии РМ [56]. Тем не менее пока нельзя с уверенностью сказать, что при СВО обнаружение лимфоцитов с реверсными мутациями связано с более легкой клинической формой заболевания [6, 55].

Приводим описание клинического наблюдения пациента с синдромом Вискотта–Олдрича и реверсной мутацией в гене *WAS*. Родители пациентов дали согласие на использование персональных данных в клинических исследованиях и публикациях.

### Описание клинического случая

В отделение иммунологии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева поступил ребенок Т., 2017 г.р., с проявлениями кожного геморрагического синдрома в виде множественных экхимозов и гематом различной давности, проявлениями atopического дерматита, течением инфекционного процесса: экссудативного левостороннего отита, острого гнойного ринита.

Из анамнеза известно, что мальчик рожден от 2-й беременности (1-я – мед. аборт), первых оперативных родов. С раннего возраста отмечались геморрагический синдром (кровоточивость десен, сыпь в виде петехий и экхимозов по всей поверхности тела), инфекционные проявления в виде деструктивной правосторонней пневмонии, осложненной плевритом, частые эпизоды инфекций верхних дыхательных путей, рецидивирующие стоматиты. Кроме того, с первых месяцев жизни была отмечена тромбоцитопения с минимальными значениями тромбоцитов – до 74 тыс./мкл. Развитие клинических проявлений у пациента суммированы в таблице 1.

Таблица 1

### Развитие клинических проявлений и использованные методы лечения у пациента с реверсной мутацией в гене *WAS*

Параметр	1 год 3 мес.	1 год 4 мес.	2 года
Жалобы	Лихорадка, кашель	Геморрагический синдром	Геморрагический синдром, atopический дерматит, экссудативный левосторонний отит, острый гнойный ринит
Исследования		Тромбоциты до 74 тыс./мкл	Тромбоциты – до 10 тыс./мкл CMV-виремия – 39 коп./мл ЦРБ – 25,2 мг/л Сниженная экспрессия белка WASP лимфоцитами с бимодальным распределением
Диагноз	Деструктивная правосторонняя пневмония, осложненная плевритом	ИТП?	Первичный комбинированный иммунодефицит: синдром Вискотта–Олдрича (мутация в гене <i>WAS</i> с.11dupG)
Лечение	Антибактер. терапия, установка дренажа	ВВИГ 1 г/кг Тромбоконцентрат Пулс-терапия ГКС с ответом, при отмене – рецидив	Ромиплостим ВВИГ Антибактер. терапия Противовирусная терапия

По данным лабораторного обследования в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева у пациента выявлены тромбоцитопения – до 10 тыс./мкл со сниженным объемом тромбоцитов (таблица 2), повышение IgA (таблица 3). Уровень С-реактивного белка был повышен до 25,2 мг/л в связи с течением инфекционного процесса. По данным иммунофенотипирования лейкоцитов значимых отклонений от нормы не выявлено.

Таблица 2  
Общий анализ крови у пациента с реверсной мутацией в гене WAS

Показатель	Значение
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	13,05
Эритроциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,05
Гемоглобин, г/л	110
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	10
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л	6,47
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,88
СОЭ, мм/ч	4

Таблица 3  
Сывороточные иммуноглобулины у пациента с реверсной мутацией в гене WAS

Показатель	Значение
IgA	1,53 (0,1–1,0)
IgM	1,41 (0,6–1,8)
IgG	9,46 (4,6–14,6)

При проведении других лабораторных и инструментальных видов исследований, костномозговой пункции значимых отклонений также не наблюдалось.

При молекулярно-генетическом обследовании была выявлена мутация в гене WAS с.11dupG, p.Met6AsnfsTer32 (M6Nfs\*32), что подтвердило диагноз «синдром Вискотта–Олдрича». По совокупности клинично-лабораторных данных оценка по шкале тяжести СВО соответствовала 4 баллам [57].

При определении внутриклеточной экспрессии белка WASP лимфоцитами было обнаружено ее снижение и бимодальное распределение, преимущественно в популяции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов (рисунок 1).

Так как экспрессия белка WASP имела нетипичную картину для СВО, с целью определения природы данного явления была выделена популяция CD8<sup>+</sup> лимфоцитов и проведено дополнительное секвенирование гена WAS, в результате которого выявлена реверсная мутация в гене WAS с.2T>G, p.Met1Arg (рисунок 2).

Рисунок 1

Определение внутриклеточной экспрессии белка WASP лимфоцитами методом проточной цитометрии

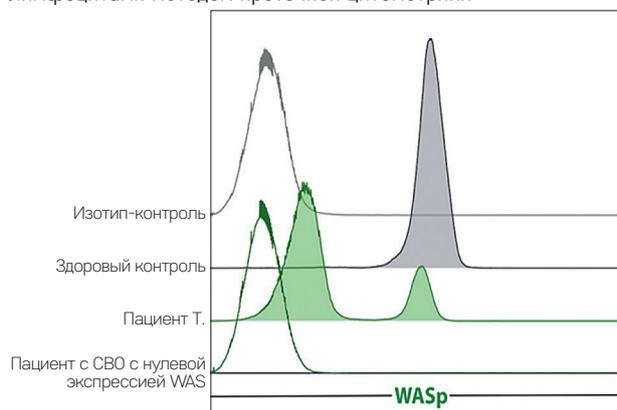
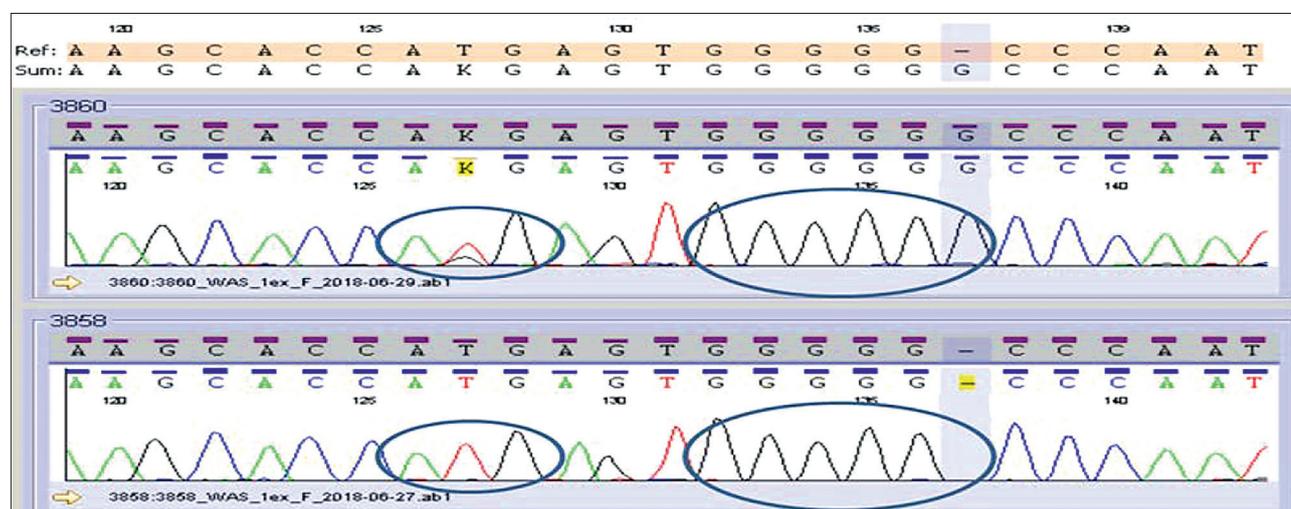


Рисунок 2

Молекулярно-генетическое исследование (секвенирование по Сенгеру) пациента с реверсной мутацией: верхняя панель – результат секвенирования гена WAS на ДНК пациента, выделенной из популяции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов с положительной экспрессией WASP; нижняя панель – результат секвенирования ДНК здорового донора; овалами обведены позиции герминальной мутации (дупликация G, с.11dupG) и реверсной соматической мутации (замена в стартовом кодоне, с.2T>G)



Поскольку герминальная мутация в гене *WAS* с.11dupG к сдвигу рамки считывания и преждевременной терминации трансляции, синтез белка WASP полностью инактивируется. В свою очередь соматическая мутация в гене *WAS* с.2T>G в 1-й позиции приводит к исчезновению старт-кодона. В результате рибосома проходит данное положение и движется далее по мРНК в поисках следующего старт-кодона, который находится в 6-й позиции. В итоге происходит сдвиг открытой рамки считывания и инициируется синтез белка WASP, укороченного на 5 аминокислот (рисунок 3). Поскольку укорочение произошло в N-концевой части и функциональные домены белка не были затронуты, функция белка в данной популяции предположительно не страдает. Важно отметить, что при повторном исследовании экспрессии белка WASP через 6 мес. было обнаружено, что популяция реверсных CD8+ Т-лимфоцитов увеличилась до 29% (рисунок 4).

Несмотря на то что у пациента имеет место синтез практически полноценного белка WASP, реверс-

ная мутация затронула небольшой пул клеток, что, возможно, не повлияло на фенотип: клинически у пациента наблюдалось среднетяжелое течение заболевания.

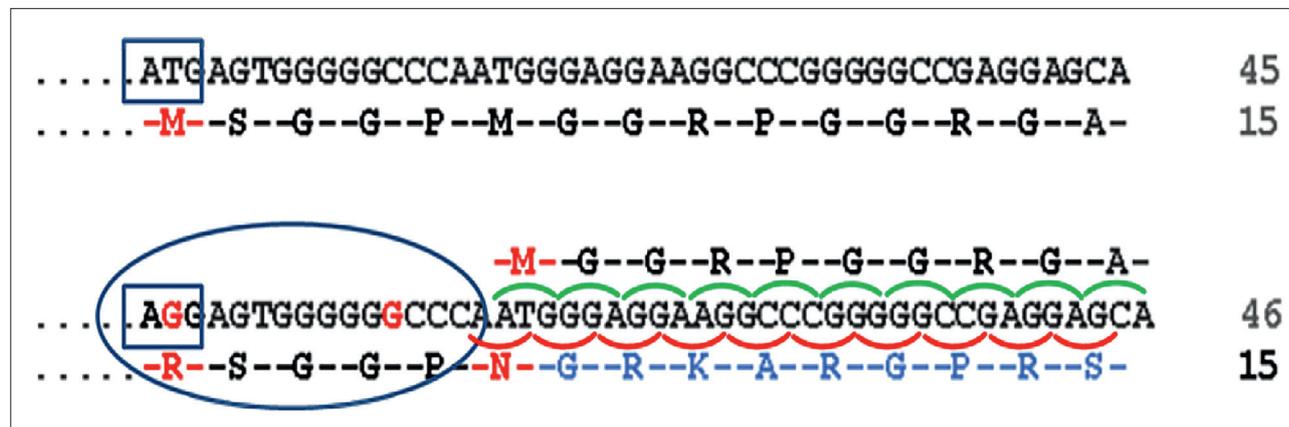
14.03.2019 ребенку была проведена успешная аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от гаплоидентичного донора (отца) с TCR/ab деплецией – это единственный доступный куративный метод лечения основного заболевания.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данный клинический пример демонстрирует пациента с синдромом Вискотта–Олдрича с реверсивной мутацией, практически полностью восстанавливающей нормальный синтез белка, однако не повлиявшей на тяжесть заболевания и необходимость проведения куративного лечения (ТГСК). Возможно, это подтверждает гипотезу о селективном преимуществе реверсных популяций клеток.

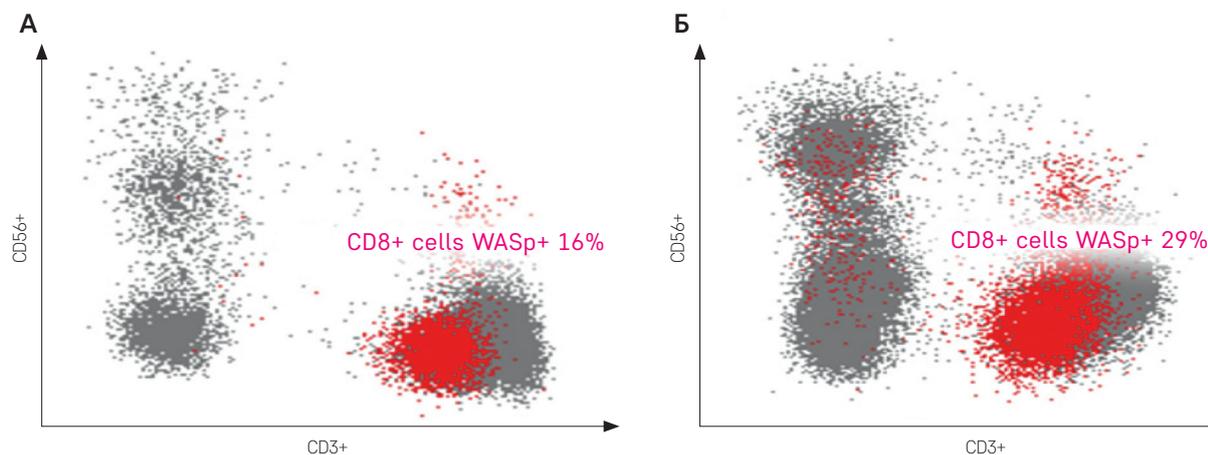
**Рисунок 3**

Схема инициации трансляции белка WASP в норме (верхняя панель) и при наличии герминальной и реверсной мутации у пациента Т. (нижняя панель)



**Рисунок 4**

Определение внутриклеточной экспрессии белка WASP лимфоцитами: популяция CD8+ лимфоцитов с синтезом белка WASP увеличилась с 16% (А) до 29% (Б)



## МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

**А.Ю. Щербина, профессор, заведующая отделением иммунологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России**

Хотя реверсный мозаицизм на данный момент явление малоизученное, анализ мировой литературы показал, что имеющееся разнообразие генетических изменений, которое может привести к появлению реверсных клеток, ставит под сомнение общепринятую гипотезу о том, что такие события чрезвычайно редки. Современные рутинные исследования, такие как исследование экспрессии различных белков методом проточной цитометрии и секвенирование нового поколения, позволили выявить большое количество случаев РМ у пациентов с первичными иммунодефицитами.

На сегодняшний день нет точного объяснения механизма появления РМ при наследственных заболеваниях. Возможно, это гетерогенный процесс, поскольку трудно объяснить огромное разнообразие вариаций реверсий, а также высокую распространенность РМ при синдроме Вискотта–Олдрича по сравнению с другими иммунодефицитами.

Данные различных клинических исследований и опыт нашего наблюдения показали, что клинические последствия РМ переменны – от отсутствия какого-либо влияния на фенотип заболевания до появления атипичных клинических форм, что может затруднять диагностику и своевременное лечение заболевания. Так, у пациентов с СВР реверсии ни в одном из описанных случаев не являлись куративными, в то время как у пациентов с ТКИН наблюдалось не только более легкое течение заболевания, но и атипичный, характерный для другой формы ПИД, фенотип.

Предполагается, что это связано с различными факторами, которые включают изначальную патогенную мутацию, тип реверсии, вид и количество клеточных линий, подвергшихся РМ, степень функционального восстановления этих клеток, а также их процентное содержание от общего числа.

Важным фактом, обнаруженным при анализе описанных клинических случаев, в том числе приведенного выше, является феномен селективного преимущества реверсной популяции клеток, поскольку в большинстве случаев с течением времени она имела тенденцию к увеличению, вплоть до 80%. Это важно учитывать при разработке протоколов генной терапии соответствующих ПИД, так как потенциально не при всех видах иммунодефицитов клетки с коррекцией дефекта имеют преимущественное выживание. Исследование реверсного мозаицизма может дать ключ к пониманию факторов, влияющих на успех генной терапии.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### ORCID

**Nesterenko Z.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4427-054X>  
**Kuzmenko N.B.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1669-8621>  
**Burlakov V.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1267-9957>  
**Victorova E.A.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2427-1417>  
**Vedmedskaya V.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7247-4844>  
**Pershin D.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>  
**Kieva A.M.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2467-2840>  
**Mersiyanova I.V.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0471-2956>  
**Varlamova T.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0501-8686>  
**Raykina E.V.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>  
**Deripapa E.V.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9083-4783>

## Литература

1. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Ailal F., Gaspar B.H., Al-Herz W., et al. The 2017 IUIS phenotypic classification for primary immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018; 38 (1): 129. DOI: 10.1007/s10875-017-0465-8
2. Okuno Y., Hoshino A., Muramatsu H., Kawashima N., Wang X., Yoshida K., et al. Late-onset combined immunodeficiency with a Novel IL2RG mutation and probable revertant somatic mosaicism. *J Clin Immunol* 2015; 35: 610–4. DOI: 10.1007/s10875-015-0202-0
3. Gajicka M. Unrevealed mosaicism in the next-generation sequencing era. *Mol Genet Genomics* 2016; 291: 513–30. DOI: 10.1007/s00438-015-1130-7
4. Lai-Cheong J.E., McGrath J.A., Uitto J. Revertant mosaicism in skin: natural gene therapy. *Trends Mol Med* 2011; 17: 140–8. DOI: 10.1016/j.molmed.2010.11.003
5. Forsberg L.A., Gisselsson D., Duman-ski J.P. Mosaicism in health and disease – clones picking up speed. *Nat Rev Genet* 2017; 18 (2): 128–42. DOI: 10.1038/nrg.2016.145
6. Stewart D.M., Candotti F., Nelson D.L. The phenomenon of spontaneous genetic reversions in the Wiskott–Aldrich syndrome: a report of the workshop of the ESID Genetics Working Party at the XIIth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Budapest, Hungary October 4–7, 2006. *J Clin Immunol* 2007; 27: 634–9. DOI: 10.1007/s10875-007-9121-z
7. Kuijpers T.W., van Leeuwen E.M., Barendregt B.H., Klarenbeek P. aan de Kerk D.J., Baars P.A., et al. A reversion of an

- IL2RG mutation in combined immunodeficiency providing competitive advantage to the majority of CD8+ T cells. *Haematologica* 2013; 98: 1030–8. DOI: 10.3324/haematol.2012.077511
8. Wada T., Candotti F. Somatic mosaicism in primary immune deficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8 (6): 510–4. DOI: 10.1097/ACI.0b013e328314b651
  9. Yang T.P., Stout J.T., Konecki D.S., Patel P.I., Alford R.L., Caskey C.T. Spontaneous reversion of novel Lesch–Nyhan mutation by HPRT gene rearrangement. *Somat Cell Mol Genet* 1988; 14: 293–303.
  10. Jonkman M.F. Revertant mosaicism in human genetic disorders. *Am J Med Genet* 1999; 85: 361–4.
  11. Hirschhorn R. In vivo reversion to normal of inherited mutations in humans. *J Med Genet* 2003; 40: 721–8.
  12. Hirschhorn R., Yang D.R., Israni A., Huie M.L., Ownby D.R. Somatic mosaicism for a newly identified splice-site mutation in a patient with adenosine deaminase-deficient immunodeficiency and spontaneous clinical recovery. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 59–68.
  13. Wada T. Revertant somatic mosaicism in primary immunodeficiency diseases. *Jpn J Clin Immunol* 2014; 37 (6): 447–53. DOI: 10.2177/jsci.37.447
  14. Ariga T., Yamada M., Sakiyama Y., Tatsuzawa O. A case of Wiskott–Aldrich syndrome with dual mutations in exon 10 of the WASP gene: an additional de novo one-base insertion, which restores frame shift due to an inherent one-base deletion, detected in the major population of the patient's peripheral blood lymphocytes. *Blood* 1998; 92: 699–701.
  15. Ariga T., Kondoh T., Yamaguchi K., Yamada M., Sasaki S., Nelson D.L., et al. Spontaneous in vivo reversion of an inherited mutation in the Wiskott–Aldrich syndrome. *J Immunol* 2001; 166: 5245–9.
  16. Wada T., Schurman S.H., Otsu M., Garabedian E.K., Ochs H.D., Nelson D.L., Candotti F. Somatic mosaicism in Wiskott–Aldrich syndrome suggests in vivo reversion by a DNA slippage mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8697–702.
  17. Wada T., Schurman S.H., Jagadeesh G.J., Garabedian E.K., Nelson D.L., Candotti F. Multiple patients with revertant mosaicism in a single Wiskott–Aldrich syndrome family. *Blood* 2004; 104: 1270–2.
  18. Wada T., Konno A., Schurman S.H., Garabedian E.K., Anderson S.M., Kirby M., et al. Second-site mutation in the Wiskott–Aldrich syndrome (WAS) protein gene causes somatic mosaicism in two WAS siblings. *J Clin Invest* 2003; 111: 1389–97.
  19. Konno A., Wada T., Schurman S.H., Garabedian E.K., Kirby M., Anderson S.M., et al. Differential contribution of Wiskott–Aldrich syndrome protein to selective advantage in T- and B-cell lineages. *Blood* 2004; 103: 676–8.
  20. Lutskiy M.I., Beardsley D.S., Rosen F.S., Remold-O'Donnell E. Mosaicism of NK cells in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome. *Blood* 2005; 106: 2815–7.
  21. Du W., Kumaki S., Uchiyama T., Yachie A., Yeng Looi C., Kawai S., et al. A second-site mutation in the initiation codon of WAS (WASP) results in expansion of subsets of lymphocytes in an Wiskott–Aldrich syndrome patient. *Hum Mutat* 2006; 27: 370–5.
  22. Humblet-Baron S., Sather B., Anover S., Becker-Herman S., Kasprovicz D.J., Khim S., et al. Wiskott–Aldrich syndrome protein is required for regulatory T cell homeostasis. *J Clin Invest* 2007; 117: 407–18.
  23. Boztug K., et al. Large granular lymphocyte proliferation and revertant mosaicism: two rare events in a Wiskott–Aldrich syndrome patient. *Haematologica* 2007; 92: e43–5.
  24. Davis B.R., Dicola M.J., Prokopishyn N.L., Rosenberg J.B., Moratto D., Muul L.M., et al. Unprecedented diversity of genotypic revertants in lymphocytes of a patient with Wiskott–Aldrich syndrome. *Blood* 2008; 111: 5064–7.
  25. Davis B.R., Yan Q., Bui J.H., Felix K., Moratto D., Muul L.M., et al. Somatic mosaicism in the Wiskott–Aldrich syndrome: molecular and functional characterization of genotypic revertants. *Clin Immunol* 2010; 135: 72–83.
  26. Boztug K., Germeshausen M., Avdilto Diez I., Gulacsy V., Diestelhorst J., Ballmaier M., et al. Multiple independent second-site mutations in two siblings with somatic mosaicism for Wiskott–Aldrich syndrome. *Clin Genet* 2008; 74: 68–74.
  27. Lutskiy M.I., Park J.Y., Remold S.K., Remold-O'Donnell E. Evolution of highly polymorphic T cell populations in siblings with the Wiskott–Aldrich Syndrome. *PLoS ONE* 2008; 3: e3444.
  28. Trifari S., Scaramuzza S., Catucci M., Ponzoni M., Mollica L., Chiesa R., et al. Revertant T lymphocytes in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome: analysis of function and distribution in lymphoid organs. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 439–48, e8.
  29. Xie J.W., Zhang Z.Y., Wu J.F., Liu D.W., Liu W., Zhao Y., et al. In vivo reversion of an inherited mutation in a Chinese patient with Wiskott–Aldrich syndrome. *Hum Immunol* 2015; 76 (6): 406–13. DOI: 10.1016/j.humimm.2015.04.001
  30. Hirschhorn R., Yang D.R., Puck J.M., Huie M.L., Jiang C.K., Kurlandsky L.E. Spontaneous in vivo reversion to normal in an inherited mutation in a patient with adenosine deaminase deficiency. *Nat Genet* 1996; 13: 290–5.
  31. Ariga T., Oda N., Yamaguchi K., Kawamura N., Kikuta H., Taniuchi S., et al. T-cell lines from 2 patients with adenosine deaminase (ADA) deficiency showed the restoration of ADA activity resulted from the reversion of an inherited mutation. *Blood* 2001; 97: 2896–9.
  32. Arredondo-Vega F.X., Santisteban I., Richard E., Bali P., Koleilat M., Loubser M., et al. Adenosine deaminase deficiency with mosaicism for a “second-site suppressor” of a splicing mutation: decline in revertant T-lymphocytes during enzyme replacement therapy. *Blood* 2002; 99: 1005–13.
  33. Liu P., Santisteban I., Burroughs L.M., Ochs H.D., Torgerson T.R., Hershfield M.S., et al. Immunologic reconstitution during PEG-ADA therapy in an unusual mosaic ADA deficient patient. *Clin Immunol* 2009; 130: 162–74.
  34. Moncada-Velez M., Vélez-Ortega A., Orrego J., Santisteban I., Jagadeesh J., Olivares M., et al. Somatic mosaicism caused by monoallelic reversion of a mutation in T-cells of a patient with ADA-SCID and the effects of enzyme replacement therapy on the revertant

- phenotype. *Scand J Immunol* 2011; 74: 471–81.
35. Stephan V., Wahn V., Le Deist F., Dirksen U., Broker B., Müller-Fleckenstein I., et al. Atypical X-linked severe combined immunodeficiency due to possible spontaneous reversion of the genetic defect in T-cells. *New Engl J Med* 1996; 335: 1563–7.
  36. Bousso P., Wahn V., Douagi I., Horneff G., Pannetier C., Le Deist F., et al. Diversity, functionality, and stability of the T-cell repertoire derived in vivo from a single human T-cell precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 274–8.
  37. Wada T., Yasui M., Toma T., Nakayama Y., Nishida M., Shimizu M., et al. Detection of T lymphocytes with a second-site mutation in skin lesions of atypical X-linked severe combined immunodeficiency mimicking Omenn syndrome. *Blood* 2008; 112: 1872–5.
  38. Speckmann C., Pannicke U., Wiech E., Schwarz K., Fisch P., Friedrich W., et al. Clinical and immunologic consequences of a somatic reversion in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Blood* 2008; 112: 4090–7.
  39. Kawai T., Saito M., Nishikomori R., Yasumi T., Izawa K., Murakami T., et al. Multiple reversions of an IL2RG mutation restore T-cell function in an X-linked severe combined immunodeficiency patient. *J Clin Immunol* 2012; 32: 690–7.
  40. Hsu A.P., Pittaluga S., Matinez B., Rump A.P., Raffeld M., Uzel G., et al. IL2RG version event in a common lymphoid progenitor leads to delayed diagnosis and milder phenotype. *J Clin Immunol* 2015; 35 (5): 449–53.
  41. Wada T., Toma T., Okamoto H., Kasahara Y., Koizumi S., Agematsu K., et al. Oligoclonal expansion of T lymphocytes with multiple second-site mutations leads to Omenn syndrome in a patient with RAG1-deficient severe combined immunodeficiency. *Blood* 2005; 106: 2099–101.
  42. Crestani E., Choo S., Frugoni F., Lee Y.N., Richards S., Smart J., et al. RAG1 reversion mosaicism in a patient with omenn syndrome. *J Clin Immunol* 2014; 34: 551–4.
  43. Rieux-Laucat F., et al. Inherited and somatic CD3 $\zeta$  mutations in a patient with T-cell deficiency. *New Engl J Med* 2006; 354: 1913–21.
  44. Nishikomori R., Akutagawa H., Maruyama K., Nakata-Hizume M., Ohmori K., Mizuno K., et al. X-linked ectodermal dysplasia and immunodeficiency caused by reversion mosaicism of NEMO reveals a critical role for NEMO in human T-cell development and/or survival. *Blood* 2004; 103: 4565–72.
  45. Mizukami T., Obara M., Nishikomori R., Kawai T., Tahara Y., Sameshima N., et al. Successful treatment with infliximab for inflammatory colitis in a patient with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2012; 32: 39–49.
  46. Kawai T., Nishikomori R., Izawa K., Murata Y., Tanaka N., Sakai H., et al. Frequent somatic mosaicism of NEMO in T-cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. *Blood* 2012; 119: 5458–66.
  47. Tone Y., Wada T., Shibata F., Toma T., Hashida Y., Kasahara Y., et al. Somatic revertant mosaicism in a patient with leukocyte adhesion deficiency type 1. *Blood* 2007; 109: 1182–4.
  48. Uzel G., Tng E., Rosenzweig S.D., Hsu A.P., Shaw J.M., Horwitz M.E., et al. Reversion mutations in patients with leukocyte adhesion deficiency type-1 (LAD-1). *Blood* 2008; 111: 209–18.
  49. Palendira U., Low C., Bell A.I., Ma C.S., Abbott R.J., Phan T.G., et al. Expansion of somatically reverted memory CD8+ T-cells in patients with X-linked lymphoproliferative disease caused by selective pressure from Epstein-Barr virus. *J Exp Med* 2012; 209: 913–24.
  50. Jing H., Zhang Q., Zhang Y., Hill B.J., Dove C.G., Gelfand E.W., et al. Somatic reversion in dedicator of cytokinesis 8 immunodeficiency modulates disease phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 1667–75.
  51. Ochs H.D., Filipovich A.H., Veys P., Cowan M.J., Kapoor N. Wiskott–Aldrich syndrome: Diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *BiolBloodMarrowTranspl* 2009; 15: 84–90.
  52. Candotti F. Clinical Manifestations and Pathophysiological Mechanisms of the Wiskott–Aldrich Syndrome. *J Clin Immunol* 2017; 38 (1): 1–15.
  53. Notarangelo L.D., Miao C.H., Ochs H.D. Wiskott–Aldrich syndrome. *Curr Opin Hematol* 2008; 15: 30–6.
  54. Sarkar K., Han S.-S., Wen K.-K., Ochs H.D., Dupré L., Seidman M.M., Vyas Y.M. R-loops cause genomic instability in Wiskott–Aldrich syndrome T-helper lymphocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2018; 142 (1): 219–34. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.11.023
  55. Davis B.R., Candotti F. Revertant somatic mosaicism in the Wiskott–Aldrich syndrome. *Immunol Res* 2009; 44: 127–31.
  56. Jin Y., Mazza C., Christie J.R., Giliani S., Fiorini M., Mella P., et al. Mutations of the Wiskott–Aldrich Syndrome Protein (WASP): hotspots, effect on transcription, and translation and phenotype/genotype correlation. *Blood* 2004; 104: 4010–9.
  57. Zhu Q., Zhang M., Blaese R.M., Derry J.M., Junker A., Francke U., et al. The Wiskott–Aldrich syndrome and X-linked congenital thrombocytopenia are caused by mutations of the same gene. *Blood* 1995; 86 (10): 3797–804.