

STIMULATION DES TLR 2 ET TLR 4 ET DOSAGE DU TNF-A PAR ELISA (CODE 20785)

Avis d'évaluation

1 INFORMATIONS GÉNÉRALES

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine.

1.2 Date de demande d'examen : 30 juillet 2012.

1.3 Date de transmission de l'avis au ministre : 12 avril 2013.

Mise en garde :

Le présent avis est fondé sur les informations scientifiques et commerciales [déposées par le(s) demandeur(s) ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire] selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE(S)

2.1 Nom de la technologie

Stimulation des récepteurs de type Toll 2 et 4 (TLR 2 et TLR 4)¹ de leucocytes² du sang avec des agonistes³ et dosage, par ELISA⁴, du TNF-a⁵ dans le surnageant.

¹ Il s'agit de 2 des 10 récepteurs de type Toll, ou *Toll-like receptors* (TLR), retrouvés chez l'humain [Picard *et al.*, 2011].

² Les leucocytes forment un groupe de cellules immunitaires qui comprend les granulocytes (neutrophiles, éosinophiles et basophiles), les lymphocytes (T, B et NK) et les monocytes/macrophages. Certains expriment les TLR 2 (NK et T CD4+) et d'autres les TLR 2 et TLR 4 (neutrophiles, monocytes, cellules dendritiques dérivées de monocytes, etc.) [Hayashi *et al.*, 2003; Hornung *et al.*, 2002; Kadowaki *et al.*, 2001].

³ Il existe divers agonistes de TLR qui miment les ligands naturels de ces récepteurs. Les ligands naturels des TLR sont des patrons moléculaires communs à des groupes de pathogènes [Essakalli *et al.*, 2009]. Ces patrons varient peu, car ils sont nécessaires à la survie microbienne [Janeway et Bottomly, 1994]. Il s'agit, par exemple, du peptidoglycane (TLR 2), de l'acide lipotéichoïque (TLR 2) et du lipopolysaccharide (LPS) (TLR 4) [Ku *et al.*, 2005]. Deux agonistes courants des TLR 2 sont des lipopeptides synthétiques : le Pam3CSK4 et le Pam2CSK4 qui miment respectivement les bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

⁴ Essai immuno-enzymatique ou *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

⁵ Le facteur de nécrose tumorale-alpha, ou *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-a), est une cytokine (c.-à-d. un médiateur chimique) importante dans la réponse immunitaire, dont l'inflammation, et comme elle est issue de la stimulation des TLR, sa production est indicatrice de leur intégrité et de celle de leurs voies de signalisation.

2.2 Description brève de la technologie

À la surface de certaines cellules, les TLR servent notamment à reconnaître divers pathogènes par des patrons moléculaires conservés et à provoquer ainsi des réactions immunitaires comme l'inflammation. Par exemple, lorsque les TLR 2 ou les TLR 4 sont activés par leurs ligands naturels ou par des agonistes, une cascade de signaux est déclenchée dans les cellules touchées, avec pour conséquence la translocation du facteur de transcription *Nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) aux noyaux. Le NF- κ B se lie alors à l'ADN dans des sites spécifiques, ce qui mène à la transcription de gènes, dont ceux qui codent pour les cytokines pro-inflammatoires TNF- α et interleukine-6 (IL-6) (figure A1 en annexe, portion entourée de noir).

Diverses protéines interviennent dans ladite cascade : l'*interleukin-1 receptor activated kinase-4* (IRAK-4), le *Myeloid differentiation factor 88* (MyD88), le *NF- κ B essential modulator* (NEMO), la protéine I-kappa B-alpha (I κ Ba) du complexe I-kappa B (I κ B), etc.

Toutefois, si les protéines IRAK-4, MyD88, NEMO ou I κ Ba font défaut dans cette voie de signalisation des TLR, la production de TNF- α est perturbée et il y a immunodéficiency, comme dans les cas de déficiency autosomale récessive en IRAK-4 ou en MyD88 et dans les cas de dysplasie ectodermique anhidrotique récessive avec immunodéficiency liée au chromosome X⁶ ou de sa forme dominante autosomale⁷.

L'analyse biomédicale qui nous concerne permet, pour des fins diagnostiques, de comparer la production de TNF- α entre des individus sains et des individus que l'on soupçonne d'être atteints de telles maladies. Il s'agit tout d'abord d'incuber, généralement pendant 24 heures, du sang entier ou des leucocytes sanguins purifiés (par centrifugation dans un gradient de densité) avec des agonistes des TLR 2 et TLR 4, puis de doser, par ELISA, le TNF- α qui découle de cette stimulation et qui se retrouve dans le surnageant de culture. Un ELISA TNF- α se fait en des étapes successives d'incubation et de lavage qui totalisent quelques heures (par exemple, entre 3,5 h et 6,5 h, dépendamment de la trousse du fabricant R&D Systems⁸). Le surnageant de culture est déposé dans une plaque dont les 96 puits sont recouverts d'anticorps monoclonaux qui capturent le TNF- α . Ensuite, sont ajoutés d'autres anticorps monoclonaux qui reconnaissent également le TNF- α et qui sont conjugués afin qu'une enzyme puisse se lier à eux. Enfin, l'ajout d'un substrat pour cette enzyme permet la détection des complexes anticorps-TNF- α par une réaction qui génère de la couleur. La détermination de la concentration de la substance d'intérêt se fait donc par la lecture de l'absorbance dans un spectrophotomètre (qui compare les valeurs des échantillons à celles d'une courbe standard analysée sur la même plaque).

2.3 Société ou développeur

Selon les informations fournies dans la demande, l'analyse (lire l'ELISA) ne se fait pas à l'aide d'une trousse (lire trousse commerciale).

2.4 Licence(s) : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

⁶ X-linked recessive anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency (XR-EDA-ID).

⁷ Autosomal dominant form of ectodermal dysplasia with immunodeficiency (AD-EDA-ID).

⁸ R&D Systems. Search for products (Search Technical Information: TNF) [site Web]. Disponible à : http://www.rndsystems.com/product_results.aspx?r=0&c=56&s=13&a=0&m=2193&k=TNF&b=False&cj=-1&o=AND&p=0.

2.6 Statut d'homologation (*Santé Canada, FDA*)

Selon les informations fournies dans la demande, les activateurs (lire les agonistes) ne sont pas homologués par Santé Canada.

2.7 Valeur pondérée : 374,0 selon les informations fournies dans la demande.

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEUX DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Selon des informations fournies par un pédiatre expert en immunologie, l'analyse biomédicale en question est habituellement réservée aux patients qui ont une réponse humorale⁹ normale, mais des infections à pneumocoques ou staphylocoques assez invasives avec peu de syndrome inflammatoire.

3.2 Description de la ou des maladies visée(s)

Quatre maladies ont été associées à une signalisation déficiente des TLR causée par des mutations qui touchent IRAK-4, Myd88, NEMO et IkBa [Von Bernuth *et al.*, 2008; Courtois *et al.*, 2003; Picard *et al.*, 2003; Doffinger *et al.*, 2001]. Ces maladies génétiques sont résumées dans le tableau B1 (Annexe B). Elles se manifestent par de graves infections pédiatriques récurrentes qui menacent la vie des individus atteints (p. ex., méningite; péricardite, abcès au foie avec péritonite généralisée [Comeau *et al.*, 2008]) et qui laissent des séquelles (p. ex., surdité, hémiplégie, retard du développement [Picard *et al.*, 2010]; cicatrices cutanées, amputation totale d'une jambe [Kuhns *et al.*, 1997]). Dans la majorité des cas de déficience en IRAK-4 et en MyD88, les premiers symptômes surviennent avant l'âge de 2 ans et respectivement 37 % et 41 % décèdent avant l'âge de 8 ans [Picard *et al.*, 2011]. Dans les cas de XR-EDA-ID, l'âge moyen au décès est de 6,4 ans [Kawai *et al.*, 2012]. Selon les informations fournies dans la demande, la prévalence et l'incidence du diagnostic de ces maladies au Québec sont inconnues.

3.3 Nombre de patients visés

Selon les informations fournies dans la demande, le volume provincial annuel attendu pour les trois prochaines années est de 10 patients par année.

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant)

Selon un pédiatre expert en immunologie, l'analyse ne devrait être prescrite que par des spécialistes en immunodéficience, donc des immunologistes ou infectiologues qui pratiquent en immunodéficience.

3.5 Modalités d'administration du test

Selon les informations fournies dans la demande, l'analyse sera pratiquée en cas d'infection sans syndrome inflammatoire et en cas de résultat anormal ou d'impossibilité de réaliser, pour des raisons de méthodes de prélèvement, l'analyse « activation des TLR (2,4) par clivage du CD62L » (code 20778), qui figure au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Par ailleurs, le même surnageant de culture peut être

⁹ Réponse qui relève principalement de l'action des anticorps.

utilisé pour l'analyse qui vise à doser l'IL-6 par ELISA après les mêmes stimulations (code 20783).

L'analyse serait pratiquée au cas par cas (périodicité indéterminée) et le temps de réponse serait de deux semaines.

Deering et Orange [2006] ont examiné plusieurs variables cliniques pertinentes et ont établi les conditions qui permettent, dans un laboratoire clinique standard, la quantification de la production de TNF- α par la stimulation des TLR à partir d'échantillons de sang humain. Il en ressort que les cellules mononucléées du sang devraient être privilégiées comme échantillon de départ puisque notamment, des cytokines préexistantes dans le sang pourraient fausser les résultats. De plus, les échantillons sanguins devraient être prélevés dans des tubes qui contiennent de l'héparine et les cellules mononucléées devraient être isolées en dedans de 30 h suivant le prélèvement. La stimulation de ces cellules avec des agonistes devrait se faire immédiatement puisque la congélation des cellules peut augmenter les réponses des TLR. L'incubation des cellules avec les agonistes devrait se faire pendant 24 h dans un milieu de culture qui contient 10 % de sérum foetal de veau.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

En considérant les informations en lien avec les analyses 20778 et 20783 présentées à la section 3.5, l'analyse qui nous occupe est jugée comme étant complémentaire ou substitutive à ces analyses.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Différentes méthodes diagnostiques ont été utilisées dans les études révisées (dont celle qui fait l'objet du présent avis) :

- dans une série de 48 cas avec déficience en IRAK-4 et de 12 cas avec déficience en MyD88 [Picard *et al.*, 2010], le diagnostic a été fait par :
 - la détection de mutations dans IRAK-4 et MyD88 (par séquençage);
 - la mesure d'une faible production d'IL-6 par les cellules du sang entier (par ELISA et suite à une stimulation par des agonistes des TLR) ou par la mesure d'une faible excrétion de L-sélectine (CD62L) par les granulocytes (par cytométrie en flux et suite à une stimulation par des agonistes des TLR, comme l'avaient précédemment décrit certains chercheurs du même groupe [Von Bernuth *et al.*, 2008; 2006]);
- dans l'étude de deux cas de déficience en IRAK-4, un diagnostic présomptif (par dosage par ELISA de la production d'IL-6 par les leucocytes sanguins) a été fait avant le séquençage [Comeau *et al.*, 2008];
- dans le but de tester la fonctionnalité de NF- κ B, certains ont mesuré, par ELISA, le TNF- α produit par des cellules mononucléées du sang suite à leur stimulation avec des agonistes des TLR 2 et TLR 4 [Mooster *et al.*, 2010; McDonald *et al.*, 2007];
- un cas de déficience en NEMO a été diagnostiqué par mesure de l'expression de NEMO (par marquage intracellulaire précédant une cytométrie en flux) dans des cellules mononucléées du sang [Nishikomori *et al.*, 2004].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La mesure du TNF-a par ELISA est une méthode quantitative coût-efficace, largement disponible et facilement pratiquée [Deering et Orange, 2006]. Plus particulièrement, des informations propres au contexte québécois sont à l'effet que l'analyse fonctionnelle qui nous occupe permet de prendre une décision clinique rapide (à savoir si un patient doit être placé sous prophylaxie antibiotique ou non) et d'identifier des déficits dans les voies de signalisation des TLR qui ne seraient pas connus (sans gène identifié).

4.4 Le coût de la technologie et des options : n'a pas été évalué.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 La pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test : ne s'applique pas.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Sur la base des informations fournies dans la demande, l'analyse permet, en cas de résultat anormal avec l'analyse 20778, de confirmer un déficit immunitaire lié à des défauts dans IRAK-4 ou dans MyD88 et de diagnostiquer, le cas échéant, une autre déficience en NEMO ou en I κ Ba. Selon les informations fournies par un pédiatre expert en immunologie, un résultat anormal avec l'analyse 20785 appelle un test génétique (plus coûteux).

5.1.3 Valeur thérapeutique : aucune information n'est disponible.

5.2 Validité clinique

La recherche documentaire n'a pas permis de repérer des études sur l'utilité et la validité cliniques du dosage du TNF-a par ELISA. Il faut souligner que l'infection sans syndrome inflammatoire est due à une maladie génétique très rare (en 2011, par exemple, 49 cas de déficience autosomale récessive en IRAK-4 et 22 cas de déficience autosomale récessive en MyD88 étaient connus dans le monde).

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERMES	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité		x	
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique		x	
Effet de matrice		x	
Concordance		x	
Corrélation entre test et comparateur		x	
Autres selon le type de test		x	

Les informations qui suivent sont présentées à titre indicatif, car les données propres à l'analyse du laboratoire demandeur peuvent être différentes si celle-ci est pratiquée avec un ELISA qui a été développé à l'interne.

Répétabilité

L'ELISA qui sert à doser le TNF-a et qui est décrit par Deering et Orange [2006] a donné un coefficient de variation (CV) relativement élevé pour l'agoniste Pam₃CSK₄. Les meilleurs CV ont été obtenus avec le zymosan et le LPS (tous deux 23 %).

Sensibilité

Comeau et ses collègues [2008] ont indiqué que la limite de détection des trousse ELISA qu'ils ont utilisées, notamment celles pour doser le TNF-a, oscillait entre 20 picogrammes (pg) et 60 pg par millilitre (ml), mais selon les informations diffusées par le fabricant, les trousse ELISA sandwich¹⁰ qui servent à doser le TNF-a humain ont une plus grande sensibilité (0,191-15,600 pg/ml)¹¹. La sensibilité de la trousse ELISA utilisée par Haraguchi et ses collaborateurs [1998] pour doser le TNF-a était inférieure ou égale à 3 pg/ml. L'ELISA sandwich décrit par Deering et Orange [2006] avait une limite de détection de 15,6 pg/ml.

5.4 Les recommandations favorables d'introduction dans les autres juridictions

Il ressort de la littérature que l'analyse qui consiste à stimuler les TLR 2 et TLR 4 des cellules immunitaires du sang avec des agonistes et à doser, par ELISA, le TNF-a qui en découle est utilisée dans plusieurs pays (p. ex., France, Canada, États-Unis et Japon), mais ne fait pas l'objet de recommandations.

6 RÉPERCUSSIONS À ANTICIPER DE L'INTRODUCTION ÉVENTUELLE DE L'ANALYSE

6.1 Impact sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été évalué.

6.2 Conséquences économiques d'une introduction dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été évaluées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : aucune information n'est disponible.

¹⁰ ELISA sandwich : type d'ELISA dans lequel la substance détectée (p. ex., TNF-a) est prise en sandwich entre deux anticorps qui lui sont spécifiques.

¹¹ R&D Systems. Search for products (Search Technical Information: TNF) [site Web]. Disponible à : http://www.rndsystems.com/product_results.aspx?r=0&c=56&s=13&a=0&m=2193&k=TNF&b=False&cj=-1&o=AND&p=0.

7 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Stimulation des TLR 2 et TLR 4 et dosage du TNF-a par ELISA
(code 20785)

Le statut de la technologie diagnostique :

- Établie
- Innovatrice
- Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- Remplacement de la technologie : _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS :

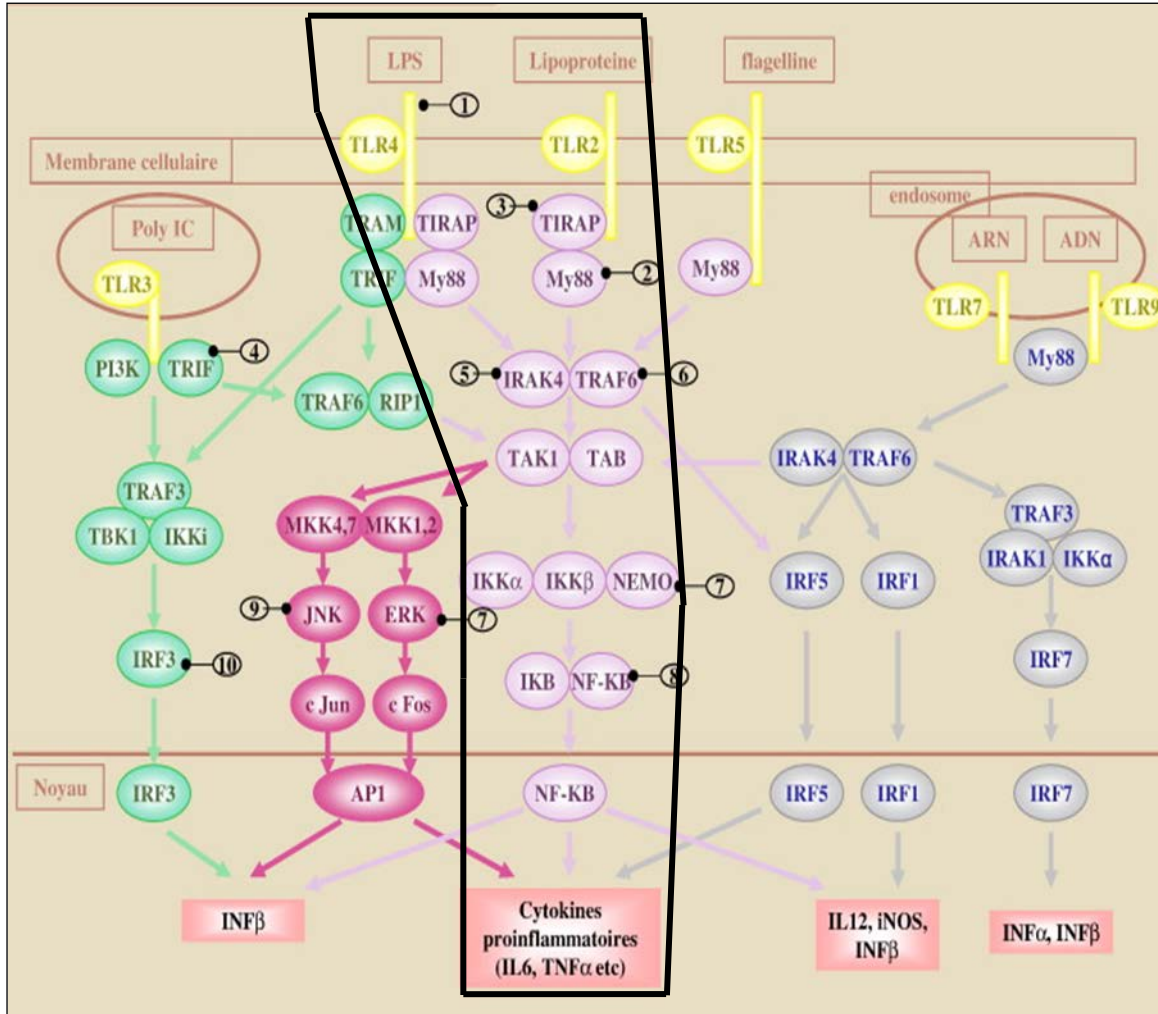
- Avis de recommandation de maintien
- Avis de refus de maintien
- Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle :

- Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- Décision de production d'un guide d'usage optimal
- Production d'indicateurs, dans le cas d'un besoin de vigilance

ANNEXE A

Figure A1 Transduction du signal des TRL



Nota : les numéros font référence à des informations non pertinentes pour le présent avis.

Adapté de Essakalli *et al.* [2009]. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

ANNEXE B

Tableau B1 Tableau-résumé des maladies relatives aux protéines IRAK-4, MyD88, NEMO et IkBa

PROTÉINE TOUCHÉE	NOM DE LA MALADIE ANNÉE DE LA DÉCOUVERTE	NOMBRE DE CAS CONNUS DANS LE MONDE EN 2011	CAUSES	CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES	RÉFÉRENCES
IRAK-4	Déficiences autosomales récessives en IRAK-4 2003	49	Mutations amorphiques dans <i>IRAK-4</i> (au moins 13 mutations différentes identifiées)	Infections graves, invasives* ou non invasives†, à bactéries pyogéniques, récurrentes et avec peu d'inflammation	Picard <i>et al.</i> , 2003; Picard <i>et al.</i> , 2011; Ku <i>et al.</i> 2005; Comeau <i>et al.</i> , 2008
MyD88	Déficiences autosomales récessives en MyD88 2008	22	Mutations dans <i>MyD88</i>	Infections graves, invasives* ou non invasives†, à bactéries pyogéniques, récurrentes et avec peu d'inflammation	Picard <i>et al.</i> , 2011; Von Bernuth <i>et al.</i> , 2008
NEMO	Dysplasie ectodermique anhidrotique récessive avec immunodéficiences liées au chromosome X 2000-2001	100	Mutations hypomorphiques dans <i>IKBKG/NEMO</i> (environ 43 mutations différentes identifiées)	Infections graves, récurrentes, invasives* à bactéries pyogéniques et avec peu d'inflammation, infections à mycobactéries de l'environnement et, dans une moindre mesure, infections graves à virus ou mycoses Anomalies du développement (cheveux, glandes sudoripares, dents, etc.)	Picard <i>et al.</i> , 2011; Ku <i>et al.</i> , 2005; Sebban et Courtois 2006; Mooster <i>et al.</i> , 2010; Kawai <i>et al.</i> , 2012
IkBa	Forme dominante autosomale de la dysplasie ectodermique anhidrotique avec immunodéficiences 2003	5	Mutations hypermorphiques dans <i>NFKBIA/IKBA</i> (au moins 3 mutations différentes identifiées)	Infections graves, récurrentes, invasives* à bactéries pyogéniques et avec peu d'inflammation, mycoses Anomalies du développement (cheveux, glandes sudoripares, dents, etc.)	Courtois <i>et al.</i> , 2003; Picard <i>et al.</i> , 2011; Kawai <i>et al.</i> , 2012

Nota : les anomalies du développement observées chez les individus atteints de mutations dans les gènes *IKBKG/NEMO* et *NFKBIA/IKBA* sont dues au fait que ces mutations ont des répercussions directes sur l'activation de NF- κ B. En effet, NF- κ B régule la transcription de plusieurs gènes, dont certains jouent un rôle dans les réponses immunitaires et d'autres dans le développement ectodermique [Smahi *et al.*, 2002].

Bactérie pyogénique : bactérie qui engendre la formation de pus.

Mutation amorphique : mutation qui cause la perte totale de la fonction d'un gène.

Mutation hypomorphique : mutation qui cause une perte partielle de la fonction d'un gène [Mooster *et al.*, 2010].

Mutation hypermorphique : mutation qui augmente la fonction normale d'un gène [Courtois *et al.*, 2003].

* Les infections invasives observées sont des méningites, des septicémies, de l'arthrite septique, de l'ostéomyélite et des abcès. Ces infections sont souvent causées par *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* [Picard *et al.*, 2011; Puel *et al.*, 2004], des bactéries aussi nommées respectivement pneumocoque et staphylocoque.

† Les infections non invasives observées dans des cas de déficiences en IRAK-4 ou en MyD88 touchent principalement la peau (furoncles, cellulite, etc.) et les voies respiratoires supérieures (sinusites, abcès aux amygdales, épiglottites nécrosantes, etc.) et sont surtout causées par *Staphylococcus aureus* [Picard *et al.*, 2011].

‡ L'état des patients atteints de déficiences en IRAK-4 ou MyD88 s'améliore considérablement avec l'âge, possiblement à cause du développement de leur immunité adaptée (réponses spécifiques des lymphocytes T et B) [Picard *et al.*, 2011].

RÉFÉRENCES

- Comeau JL, Lin TJ, Macken MB, Li B, Ku CL, von Bernuth H, et al. Staphylococcal pericarditis, and liver and paratracheal abscesses as presentations in two new cases of interleukin-1 receptor associated kinase 4 deficiency. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27(2):170-4.
- Courtois G, Smahi A, Reichenbach J, Doffinger R, Cancrini C, Bonnet M, et al. A hypermorphic IkappaBalpha mutation is associated with autosomal dominant anhidrotic ectodermal dysplasia and T cell immunodeficiency. *J Clin Invest* 2003;112(7):1108-15.
- Deering RP et Orange JS. Development of a clinical assay to evaluate toll-like receptor function. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13(1):68-76.
- Doffinger R, Smahi A, Bessia C, Geissmann F, Feinberg J, Durandy A, et al. X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency is caused by impaired NF-kappaB signaling. *Nat Genet* 2001;27(3):277-85.
- Essakalli M, Atouf O, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Brick C. Toll-like récepteurs. *Pathol Biol (Paris)* 2009;57(5):430-8.
- Haraguchi S, Day NK, Nelson RP Jr, Emmanuel P, Duplantier JE, Christodoulou CS, Good RA. Interleukin 12 deficiency associated with recurrent infections. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(22):13125-9.
- Hayashi F, Means TK, Luster AD. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood* 2003;102(7):2660-9.
- Hornung V, Rothenfusser S, Britsch S, Krug A, Jahrsdorfer B, Giese T, et al. Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *J Immunol* 2002;168(9):4531-7.
- Janeway CA Jr et Bottomly K. Signals and signs for lymphocyte responses. *Cell* 1994;76(2):275-85.
- Kadowaki N, Ho S, Antonenko S, Malefyt RW, Kastelein RA, Bazan F, Liu YJ. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J Exp Med* 2001;194(6):863-9.
- Kawai T, Nishikomori R, Heike T. Diagnosis and treatment in anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. *Allergol Int* 2012;61(2):207-17.
- Ku CL, Yang K, Bustamante J, Puel A, von Bernuth H, Santos OF, et al. Inherited disorders of human Toll-like receptor signaling: Immunological implications. *Immunol Rev* 2005;203:10-20.
- Kuhns DB, Long Priel DA, Gallin JI. Endotoxin and IL-1 hyporesponsiveness in a patient with recurrent bacterial infections. *J Immunol* 1997;158(8):3959-64.
- McDonald DR, Mooster JL, Reddy M, Bawle E, Secord E, Geha RS. Heterozygous N-terminal deletion of IkappaBalpha results in functional nuclear factor kappaB haploinsufficiency, ectodermal dysplasia, and immune deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(4):900-7.

- Mooster JL, Cancrini C, Simonetti A, Rossi P, Di Matteo G, Romiti ML, et al. Immune deficiency caused by impaired expression of nuclear factor-kappaB essential modifier (NEMO) because of a mutation in the 5' untranslated region of the NEMO gene. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(1):127-32.e7.
- 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(12):4565-72.
- Picard C, Casanova JL, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or Ikappa Balpha deficiency. *Clin Microbiol Rev* 2011;24(3):490-7.
- Picard C, von Bernuth H, Ghandil P, Chrabieh M, Levy O, Arkwright PD, et al. Clinical features and outcome of patients with IRAK-4 and MyD88 deficiency. *Medicine (Baltimore)* 2010;89(6):403-25.
- Picard C, Puel A, Bonnet M, Ku CL, Bustamante J, Yang K, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with IRAK-4 deficiency. *Science* 2003;299(5615):2076-9.
- Puel A, Picard C, Ku CL, Smahi A, Casanova JL. Inherited disorders of NF-kappaB-mediated immunity in man. *Curr Opin Immunol* 2004;16(1):34-41.
- Sebban H et Courtois G. NF-kappaB and inflammation in genetic disease. *Biochem Pharmacol* 2006;72(9):1153-60.
- Smahi A, Courtois G, Rabia SH, Doffinger R, Bodemer C, Munnich A, et al. The NF-kappaB signalling pathway in human diseases: From incontinentia pigmenti to ectodermal dysplasias and immune-deficiency syndromes. *Hum Mol Genet* 2002;11(20):2371-5.
- Von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku CL, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science* 2008;321(5889):691-6.
- Von Bernuth H, Ku CL, Rodriguez-Gallego C, Zhang S, Garty BZ, Marodi L, et al. A fast procedure for the detection of defects in Toll-like receptor signaling. *Pediatrics* 2006;118(6):2498-503.