

2. Zusammenfassung der eigene Arbeiten

2.1. Kontinuierliche postnatale plastische Veränderungen in der Innervation und Neurotrophinexpression der Haut

Während der Morphogenese der murinen Rückenhaul, die sich von der neonatalen in die postnatale Entwicklung hineinzieht, entwickeln sich Haut- und Hautanhangsgebilde wie z. B. Haare in Wellen. Die Haarfollikel entstehen dabei in aufeinanderfolgenden Generationen. Die Innervation der Rückenhaul, wie sie mit dem panneuronalen Marker PGP 9.5 und Gap-43, einem Marker für wachsende Nervenfasern, nachgewiesen werden kann, entwickelt sich parallel zur Morphogenese der Haut. In enger zeitlicher und örtlicher Abhängigkeit vom Entwicklungsstand der Haarfollikel (162) werden initial zunächst Dermis und Subkutis innerviert. Mit dem Tag der Geburt, dann, wenn hohe sensible Anforderungen an die Epidermis gestellt werden, wird schließlich die Epidermis dicht innerviert (162). Haarfollikel sind von den ersten Stadien ihrer Entwicklung an eng mit Nervenfasern assoziiert und die Komplexität der Haarfollikelinnervation nimmt mit dem Stadium der Haarwuchsentwicklung zu, unabhängig davon mit welcher Welle ein Haarfollikel intrauterin oder postnatal entsteht (162).

Ebenso wie die anatomische ist die funktionale Entwicklung der Rückenhaul zeitlich und örtlich determiniert. Mit dem Tag der Geburt lassen sich erstmalig Neuropeptide wie SP und *Calcitonine Gene Related Peptide* (CGRP) in sensiblen Nervenfasern nachweisen. Ihnen nach folgen Markern für die cholinerge Innervation wie Cholinazetyltransferase und *Peptide Histidine Methionine*. Zuletzt zeigen sich Marker für noradrenerge Nervenfasern wie Tyrosinhydroxylase und Neuropeptid Y (162).

Mit dem Durchtritt der Haarfollikel durch die Epidermis ist die Hautentwicklung abgeschlossen. Gleichzeitig geht die Dichte der Nervenfasern und die Nachweisbarkeit des Wachstumsmarker Gap-43 in der Epidermis signifikant zurück, während die Komplexität der Haarfollikelinnervation zunimmt und hier die Nachweisbarkeit von Gap-43, insbesondere in zirkulären sensiblen C-Fasern, erhalten bleibt (162). Diese Reduktion der epidermalen Innervation parallel zur Zunahme der follikulären Innervation legt die Übernahme epidermaler sensibler Funktionen durch die Haarfollikelinnervation nah und

demarkiert das neu entstandene Haarfollikelostium als wichtige, neuronal kontrollierte Interaktionsfläche zwischen Körper und Umwelt.

- Das heißt demnach, dass wir während der Morphogenese von Haut und Haar einen komplexen Auf- und schließlich Umbauprozess der Haut- und Haarinnervation beobachten können. Diese Prozesse zeigen schon zu diesem frühen Zeitpunkt deutlich die Anpassung an veränderte trophische Notwendigkeit (Haarentwicklungsstadium) und Umwelteinflüsse (Durchtritt des Haarschaftes durch die Epidermis mit veränderten sensiblen Anforderungen) an. Diese durchgehende Adaptation zeigt sich schließlich in der fortgesetzten Gap-43 Expression in der Haarfollikelinnervation.

Mit dem Abschluss der Haut- und Haarentwicklung tritt die Hautinnervation jedoch nicht, wie lange angenommen, in eine Phase der Statik ein. Auch im adulten Säugetier unterliegt die Haut- und Haarinnervation in Abhängigkeit von den zyklisch wiederkehrenden Auf- und Abbauprozessen, die den Haarzyklus kennzeichnen, massiven plastischen Veränderungen (28, 124, 154). Insbesondere die sensible peptiderge Innervation mit SP+ und CGRP+ Nervenfasern und deren Kontakte zu Mastzellen nehmen in der Haarwuchsphase zu (124, 154), wenn der Haarfollikel durch massive Proliferation, neue sensible Anforderungen und verstärkt wirksame Umwelteinflüsse (wie chemische und biologische Noxen) gekennzeichnet ist. Gleichzeitig steigt die Expression von NGF in dieser Phase an (158). Exogene Zufuhr von SP und NGF in der frühen Wachstumsphase beschleunigt schließlich das Haarwachstum und zeigt die trophische Relevanz dieser Innervation und der Neurotrophinexpression (124, 158). Im Kontrast dazu führt die exogene Zufuhr von NGF in der späten Wachstumsphase, wenn die folliculäre Expression von proNGF und p75 prominent nachzuweisen ist, zu einem Haarwachstumsstop (158).

- Damit ist evident, dass die Haut- und Haarinnervation postnatal, schon unter physiologisch auftretenden Veränderungen der Hautstruktur, ausgeprägten und funktional relevanten plastischen Veränderungen unterworfen ist. Diese Plastizität erleichtert die Adaptation an veränderte sensible und neurotrophische sowie neuroimmunologische Erfordernisse in der Haut (28). Die Kenntnis der Fähigkeit der Hautinnervation und Haut-

Neuroimmunkommunikation zu lebenslanger Plastizität ist Voraussetzung für die Analyse von Anpassungsvorgängen an pathogene Umweltenflüsse (z. B. Stress) und Entzündungsreaktionen in der Haut (z. B. allergische Dermatitis), wie sie in den folgenden Arbeiten bearbeitet wurden.

2.2. Psychoemotionale Faktoren (Stress) als Auslöser neurogener entzündungsmodulierender Mechanismen in der murinen Haarwachskontrolle

Setzt man Mäuse mit allen Rückenhaarfollikeln in der Wachstumsphase des Haarzyklus (Anagen) für 24h einem durch einen handelsüblichen Maulwurfsvertreiber produzierten Geräusch⁴ aus, so reagieren die Haarfollikel dieser Mäuse mit einem vermehrten Auftreten von apoptotischen Ereignissen und einem vorzeitigen Eintritt in das Regressionsstadium des Haarzyklus (Katagen), welches direkt in das Ruhestadium des Haarzyklus (Telogen) und damit einen Stop des Haarwachstums überleitet. Der Haarwachstumsstop geht einher mit einer dichten Infiltration des perifollikulären Gewebes mit MHCII+ Makrophagen und mit dem gehäuften Auftreten degranulierter Mastzellen in der interfollikulären Dermis und Subkutis. Dieses haarwuchsinhibierende, stress-induzierte Entzündungsereignis scheint von der Präsenz SP+ Nervenfasern abzuhängen, die vermehrt in der Haut der gestressten Tiere nachgewiesen werden können. Diese Vermutung bestätigend, kann die stress-bedingte vorzeitige Haarfollikelregression und die assoziierte entzündliche Reaktion in der Haut durch die Gabe von Antagonisten des NK1-Rezeptors, des dominanten Rezeptors für SP in der Haut, inhibiert werden (128).

Die SP+ Innervation der Haut wiederum hängt von der Bereitstellung des Neurotrophins NGF ab, welches außerdem selbst als Stress-Mediator und Mastzell-Degranulator fungieren kann. Unter Stress ist dieses Neurotrophin, sowie sein niedrig-affiner, Apoptose-induzierender Rezeptor p75, vermehrt in der Mäuserückenhaut und im Haarfollikel nachweisbar, während der hochaffine, Proliferation-vermittelnde Tyrosinkinase Rezeptor TrkA reduziert nachweisbar ist. Diese Expressionsmuster sind relevant für die kutane

⁴ Stress-Exposition durch einen unregelmäßig 4x pro Minute ertönenden 300 Hz Ton, dem die Tiere nicht ausweichen können und an den sie sich durch das unregelmäßige Erklingen nicht gewöhnen können.

Stressreaktion, da die Gabe von NGF-neutralisierenden Antikörpern die Stress-induzierte haarwuchshemmende Entzündungsreaktion inklusive Mastzelldegranulation und MHCII+ Infiltration blockieren kann (60).

- Diese Ergebnisse zeigen erstmalig am Beispiel des Haarwachstums einen pathogenetisch relevanten neurogenen Mechanismus stress-induzierter Störung trophischer Homöostase auf. Hierbei kommt den neurogenen Stress-Mediatoren SP und NGF in der Induktion einer haarwachstumshemmenden perifollikuläre Entzündungsreaktion eine zentrale und pharmakologisch modifizierbare Rolle zu.

2.3. Kontrolle des humanen Haarwachstums durch neurogene Stressmediatoren

Neurogene Mechanismen stress-induzierten Haarausfalls sind am Menschen ungleich schwieriger zu untersuchen als an der Maus, da der Nachweis, vor allem von Neuropeptiden, zahlreiche Biopsien und spezielle Fixiertechniken sowie umfangreiche ethische Abwägung erfordert. Um uns dennoch der Funktionsweise neurogener Signalmoleküle in der Kontrolle des humanen Haarwachstums anzunähern, haben wir uns eines Modells für die *in vitro* Analyse der humanen Haarfollikelregression (Katagen-artige Entwicklung) mit Hilfe eines Kulturassays für isolierte humane Haarfollikel aus der Kopfhaut bedient. Diese Haarfollikel sind sämtlich in der Wachstumsphase des Haarzyklus (Anagen VI) und können unter geeigneten Kulturbedingungen ca. 8-12 Tage in diesem Stadium verbleiben, bis die aktive Haarschaftproduktion sistiert und die Follikel spontan in die Regression eintreten. An diesem Modell konnten wir zeigen, dass die komplette Signalkaskade für NGF in der humanen Haut und im humanen Haarfollikel ebenso wie in der Maushaut vorhanden ist, und dass der Zusatz von NGF zum Kulturmedium zum vorzeitigen und spezifischen Eintritt der Haarfollikel in die Regressionsphase führt (153), analog den Stress-induzierten Vorgängen am murinen Haarfollikel.

Aufbauend auf einen Reviewartikel (17) über die Relevanz der dichten und komplexen Haarfollikelinnervation für die trophische Homöostase des Haarfollikels, haben wir diese Arbeiten in einer umfassenden Übersicht psychoneuroimmunologischer Haarwachstumskontrollmechanismen zusammen-

fassen können (28) (siehe dazu den Ergänzungsband zur Habilitationsschrift im Anhang).

- Diese Ergebnisse zeigen, dass am humanen Haarfollikel das Szenarium für stress-induzierte neurogene Haarwuchsinhibition gegeben ist, humane Haarwuchskontrolle damit ebenso wie murine neurogen-immunmodulatorischen Mechanismen unterliegt und eine analoge Anpassungsreaktion auftreten kann.

2.4. Kontrolle der Plastizität der Hautinnervation, neurogenen Entzündung und assoziierter Erkrankungen (z. B. Neurodermitis) in der Haut durch psychoemotionaler Faktoren (Stress)

Nachdem wir zeigen konnten, dass Stress-Exposition die SP+ Innervationsdichte am anagenen Haarfollikel modifiziert, waren wir interessiert zu erfahren, ob es sich hierbei um ein generell auftretendes Phänomen unter Stress-Exposition handelt, und ob dieser Anstieg von pathogenetischer Relevanz für Hauterkrankungen mit bekannter bzw. vermuteter psycho- und neurogener Komponente ist. Hierzu untersuchten wir die SP+ Hautinnervation in der Telogenhaut von gestressten Mäusen, unabhängig vom Haarwachstum. In diesen Experimenten zeigte sich, dass nicht nur die SP+ Nervenfaserdichte unter Stress ansteigt, sondern zusätzlich die Zahl der Kontakte von Nervenfasern zu Mastzellen zunimmt. Parallel dazu sind vermehrt Mastzelldegranulation und Zeichen einer gewebeschädigenden neurogenen Entzündung (apoptotische Zellen in der Dermis und Subkutis, elektronenmikroskopisch sichtbares Auseinanderweichen von Endothelzellen) zu beobachten. Dieser Anstieg von SP+ Nervenfasern reflektiert Plastizität der peripheren Innervation, wie der begleitende Anstieg des Nervenwachstumsmarkers Gap-43 anzeigt (129).

- Damit sind die Voraussetzungen für eine verstärkte neurogene Entzündung unter Stress aufgezeigt. Eine solche Verstärkung neurogener Entzündungsmomente muss in einer Erkrankung mit neurogener Komponente zur Stress-bedingten Exazerbation führen.

Um diese Hypothese zu überprüfen, haben wir das bereits etablierte 24h-Geräuschstress-Paradigma mit einem Mausmodell für periphere Entzündung, der allergischen Dermatitis analog zur humanen Neurodermitis kombiniert. In diesem Modell führt Stress zur Exazerbation der allergischen Dermatitis in Abhängigkeit von SP-induzierter neurogener Entzündung (160).

- Neurogene Entzündung unter der Kontrolle von Stress-Mediatoren wie SP ist deshalb ein wichtiges und pharmakologisch wirksames Element der Exazerbation entzündlicher Hauterkrankungen wie der allergischen Dermatitis. Auf diesen Zusammenhang weisen zahlreiche publizierte Berichte hin (siehe Einleitung). Die wissenschaftliche Beweislage blieb bislang jedoch dünn und in erster Linie spekulativ. Mit den hier vorgelegten Ergebnissen gelingt ein wichtiger Brückenschlag in der psychoneuroimmunologischen Analyse pathogenetischer Vorgänge bei peripheren Entzündungserkrankungen. Dieser Brückenschlag unterstreicht die Wichtigkeit lang unterbewerteter inerter Abwehrmechanismen im Sinne fehlgeleiteter Adaptation an gesteigerte Umwelтанforderungen.