

Aus dem CharitéCentrum 17 für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin
mit Perinatalzentrum und Humangenetik
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie
(Direktor: Prof. Dr. med. Ulrich Wahn)

Habilitationsschrift

Immunmodulatorische Konzepte zur Prävention atopischer Erkrankungen

Zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach
Kinder- und Jugendmedizin
vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Kerstin Gerhold

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. H. Schrotten/ Mannheim

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. R. Buhl/ Mainz

Datum des öffentlich wissenschaftlichen Vortrags: 26.01.2009

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	5
1.1	Atopische Erkrankungen	5
1.1.1	Epidemiologie atopischer Erkrankungen	5
1.1.2	Mögliche Ursachen der Zunahme atopischer Erkrankungen	5
1.1.3	Pathophysiologie atopischer Erkrankungen am Beispiel Asthma bronchiale	6
1.2	Das spezifische adaptive Immunsystem	7
1.2.1	Entwicklung der Th1- und Th2-Effektorzellen	8
1.2.1.1	Th2-Zellen	9
1.2.1.2	Th1-Zellen	9
1.2.2	Regulatorische T-Zellen	10
2.	Immunmodulatorische Therapiekonzepte	11
2.1	Suszeptibilität eines Organismus gegenüber allergischen Erkrankungen	11
2.2	Immunmodulatorische Therapiekonzepte auf der Basis der molekularen Mechanismen atopischer Erkrankungen	15
2.3	Immunmodulation durch Suppression der Th2-Immunantwort	16
2.4	Immunmodulation durch Induktion der Th1-Immunantwort	20
2.4.1	Regulation durch CD8 ⁺ Zellen	20
2.4.2	Die „Hygiene-Hypothese“	21
2.4.2.1	Impfungen	22
2.4.2.2	Der „Farm-Effekt“	25
2.5	Immunmodulation durch Toleranzinduktion	28
3.	Diskussion	30
3.1	Suszeptibilität eines Organismus gegenüber allergischen Erkrankungen	30
3.2	Immunmodulation durch Suppression der Th2-Immunantwort	31

3.3	Immunmodulation durch Induktion der Th1-Immunantwort	33
3.4	Immunmodulation durch Toleranzinduktion	37
4.	Zusammenfassung und Ausblick	41
5.	Literatur	43
6.	Abkürzungsverzeichnis	58
7.	Danksagung	60
8.	Eidesstattliche Erklärung	61

1. Einleitung

1.1 Atopische Erkrankungen

1.1.1 Epidemiologie atopischer Erkrankungen

Atopische Erkrankungen wie die atopische Dermatitis, die allergische Rhinokonjunktivitis und das allergische Asthma bronchiale, stellen ein zunehmendes Gesundheitsproblem in den westlichen Industrienationen dar. Vor nur 100 Jahren zählten Allergien in Deutschland und anderen europäischen Ländern zu den seltenen Erkrankungen; der dramatische Anstieg ihrer Inzidenz und Prävalenz in den letzten 30 Jahren hat sie heute zur „Epidemie des 21. Jahrhunderts“ (Isolauri 2004) werden lassen: Schätzungsweise 15 bis 30% der allgemeinen und 20 bis 25% der deutschen Bevölkerung leiden an einer allergischen Erkrankung, im Kindesalter stellen Allergien die häufigsten aller chronischen Erkrankungen dar. Daten aus der multizentrischen Allergiestudie „MAS“ zeigen, dass in Deutschland etwa 10% aller Säuglinge von einer atopischen Dermatitis und 8% aller Schulkinder von einem allergischen Asthma bronchiale betroffen sind (Nickel 2002); 25% aller Erwachsenen leiden an einer allergischen Rhinokonjunktivitis. Allgemein anerkannt ist, dass es sich bei der Zunahme der Inzidenz und Prävalenz allergischer Erkrankungen um eine wahre Zunahme der Allergiehäufigkeit handelt, die sich nicht allein auf eine erhöhte Aufmerksamkeit gegenüber diesen Erkrankungen oder bessere diagnostische Möglichkeiten begründet (Burney 1990, Gergen 1992).

1.1.2 Mögliche Ursachen der Zunahme atopischer Erkrankungen

Voraussetzung für die Entwicklung einer allergischen Entzündung ist die Exposition eines suszeptiblen Organismus mit einem Allergen; ein nicht suszeptibler, „gesunder“ Organismus dagegen entwickelt keine Entzündungsreaktion auf ein harmloses Umweltantigen, er zeigt die physiologische Reaktion des Immunsystems, die spezifische Toleranz gegenüber diesem Allergen.

Bisher bekannt ist, dass die Suszeptibilität eines Organismus auf einer genetischen Prädisposition basiert, der so genannten Atopie, die für die Dysregulation und die dadurch

initiierte Imbalance der zellulären Immunantwort gegenüber Allergenen verantwortlich ist (Kabesch 2006). Allergien sind jedoch keine monogenen Erkrankungen; sie gehören zu jenen komplexen Erkrankungen, die auf der Interaktion einer zurzeit nicht bekannten Anzahl von Genen basieren. Jedes der Gene trägt wahrscheinlich nicht mehr als 3 bis 4% zum Phänotyp der Erkrankung bei.

Da sich der genetische Hintergrund in einer Population in einer Periode von weniger als 100 Jahren nicht wesentlich verändert haben kann, werden für den erheblichen Anstieg der Inzidenz allergischer Erkrankungen vor allem veränderte Umweltfaktoren verantwortlich gemacht. Als maßgeblich werden hier Faktoren des „westlichen Lebensstils“ wie Luftschadstoffe, verstärkte Allergenexpositionen infolge des Klimawandels mit der zunehmenden Erderwärmung und der dadurch verlängerten Pollensaison, gegenwärtige Ernährungsgewohnheiten, Impfprogramme sowie die verbesserten Hygienebedingungen und damit die Abnahme von Infektionskrankheiten diskutiert (Liu 2006). Diese verschiedensten Umweltfaktoren können möglicherweise Expressionsmuster beteiligter Gene beeinflussen. Die Suszeptibilität eines Organismus gegenüber allergischen Erkrankungen basiert dementsprechend auf einem regulatorischen Netzwerk von Gen-Gen-, Umwelt-Gen- und Umwelt-Umwelt-Interaktionen, die das Immunsystem schon während seiner Entwicklung prägen.

1.1.3 Pathophysiologie atopischer Erkrankungen am Beispiel Asthma bronchiale

Die allergische Reaktion vom Typ 1 nach Coombs und Gell (1963) stellt eine Fehlregulation des adaptiven zellulären Immunsystems dar, charakterisiert durch eine überschießende Reaktion auf ein normalerweise harmloses Umweltantigen, dem Allergen. Zu den Erkrankungen, die mit einer Allergie vom Typ 1 einhergehen, gehört das allergische Asthma bronchiale, eine rezidivierend auftretende, Obstruktion der Atemwege, die durch eine eosinophile Entzündung und vermehrte Mucusproduktion der Bronchialschleimhaut sowie eine Hyperreaktivität der glatten Atemwegsmuskulatur nach Kontakt mit einem entsprechenden Allergen hervorgerufen wird.

Ein erster Allergenkontakt führt zunächst zur *allergischen Sensibilisierung*, die *allergische Entzündung* entwickelt sich nach einem folgenden Allergenkontakt.

Bei einem ersten Kontakt wird das Allergen direkt über die Haut, inhalativ über die Schleimhäute der Atemwege oder oral über die des Gastrointestinaltraktes von ortständigen Makrophagen und dendritischen Zellen (DCs) phagozytiert. Die anschließende Antigenpräsentation an naive T-Zellen induziert die Entwicklung allergenspezifischer T- und B-Zellen. Eine überschießende sogenannte T-Helfer-2- (Th2-) Immunantwort führt zur Produktion der Schlüsselzytokine Interleukin (IL-)4 und -13, die in B-Zellen einen Immunglobulin- (Ig-)Klassenwechsel und damit eine erhöhte IgE-Produktion induzieren. Allergenspezifische IgE-Moleküle binden an Mastzellen und basophile Granulozyten und sensibilisieren so diese Zellen. Bei einem nachfolgenden Allergenkontakt führt die durch Allergenbindung induzierte Kreuzvernetzung mindestens zweier IgE-Moleküle auf den sensibilisierten Zellen zu deren Aktivierung. Mastzellen und basophile Granulozyten setzen daraufhin Mediatoren wie Histamin frei und führen so im Rahmen der allergischen Sofortreaktion zur Kontraktion der Bronchialmuskulatur und zum Ödem der Bronchialschleimhaut; Mediatoren wie Leukotriene tragen durch Chemotaxis allergenspezifischer T-Zellen zur Spätreaktion, der eosinophilen Atemwegsentzündung, bei. Das nun von Th2-Zellen lokal überschießend produzierte Zytokin IL-5 induziert maßgeblich die nachfolgende Akkumulation eosinophiler Granulozyten und die vermehrte Schleimproduktion in den Atemwegen (kürzlich zusammengefasst in (Coffmann 2006)).

1.2 Das spezifische adaptive Immunsystem

Allergien sind als „Th2-dominierte Erkrankungen“ Erkrankungen des adaptiven zellulären Immunsystems. Das adaptive Immunsystem soll den Organismus spezifisch vor körperfremden Molekülen, vor Infektionen oder entdifferenzierten körpereigenen Zellen schützen. Die Strukturen, die die zellulären sowie humoralen Abwehrmechanismen des Organismus aktivieren, werden Antigene genannt. Da es keinen grundsätzlichen Unterschied im Aufbau körperfremder und -eigener bzw. gefährlicher und ungefährlicher Antigene gibt, ist das Immunsystem von komplexen Regulationsmechanismen abhängig, die darüber entscheiden,

welche Form der Immunantwort induziert wird.

T-Zellen sind die maßgeblichen Zellen des adaptiven Immunsystems höher entwickelter Organismen. Sie entwickeln sich im Thymus und exprimieren zur Antigenerkennung den T-Zell-Rezeptor (TCR) auf ihrer Oberfläche. *Zytotoxische T-Zellen* exprimieren CD8-Moleküle auf ihrer Oberfläche, die als Ko-Rezeptoren major histocompatibility complex (MHC)-Klasse I-Moleküle körpereigener Zellen erkennen. Sie sind unter anderem für die Erkennung und Vernichtung virusinfizierter Zellen zuständig. *T-Helfer-(Th-)Zellen* exprimieren CD4-Moleküle auf ihrer Oberfläche, die als Ko-Rezeptoren MHC-Klasse II-Moleküle körpereigener Zellen erkennen. Es werden nach ihrem Zytokinsekretionsprofil zwei Th-Zelltypen unterschieden: *Th1-Zellen* produzieren die Zytokine IL-2, Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- β) und Interferon (IFN- γ), und sind für die Abwehr intrazellulärer Erreger wie Viren oder Mykobakterien entscheidend. *Th2-Zellen* produzieren die Zytokine IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL-13, stimulieren B-Zellen zur IgE-Produktion und vermitteln so die Abwehr gegen Parasiten einerseits, allergische Reaktionen andererseits. Übergangsformen zwischen diesen beiden T-Zell-Typen existieren insbesondere im humanen Immunsystem (Umetsu 1997; Dumoutier 2000).

1.2.1 Entwicklung der Th1- und Th2-Effektorzellen

Den Thymus verlassen naive CD4⁺ Th-Zellen, deren weitere Differenzierung in der Peripherie erfolgt. Prinzipiell ist die Antigenpräsentation durch DCs oder andere antigenpräsentierende Zellen (APCs) maßgeblicher Schritt in der Differenzierung naiver CD4⁺ Zellen in Th1- oder Th2-Effektorzellen und damit grundlegend für die Polarisierung der adaptiven zellulären Immunantwort. Nach Phagozytose eines Fremddantigens migrieren unreife, phagozytierende DCs der Haut und Schleimhäute über Blut und Lymphe in die sekundär lymphatischen Organe und differenzieren dabei zu reifen APCs. In den sekundär lymphatischen Organen bilden sie eine immunologische Synapse mit naiven CD4⁺ T-Zellen: Sie präsentieren das am Ort des Antigeneintritts phagozytierte, anschließend prozessierte und an MHC-Moleküle gebundene Antigen dem entsprechenden TCR, sezernieren Zytokine, die an die jeweiligen Zytokinrezeptoren der T-Zellen binden, und exprimieren kostimulatorische Signale, die mit den entsprechenden Ko-Rezeptoren auf den T-Zellen interagieren.

1.2.1.1 Th2-Zellen

In Gegenwart des von Epithelzellen produzierten thymic stromal lymphopoietin (TSLP, Zhou 2005) und des kostimulatorischen, proinflammatorisch wirksamen Moleküls OX40Ligand (L) (Ito 2005) sowie des Th2-Zytokins IL-4 selbst führt die allergeninduzierte Aktivierung reifer CD8a⁻ myeloider (m)DCs der Lunge zur Differenzierung naiver CD4⁺ T-Zellen in Th2-Zellen. IL-4 aktiviert dabei über zwei Rezeptor-Subtypen die zytoplasmatischen Janus Kinasen (JAK) 1 und 2 bzw. 3 der T-Zellen, die durch Phosphorylierung von Tyrosinresten den Transkriptionsfaktor signal transducer and activator of transcription (STAT)6 aktivieren. STAT6 vermittelt unter anderem die Induktion des Transkriptionsfaktors GATA3. Beide Transkriptionsfaktoren veranlassen spezifisch die Transkription der Th2-Zytokine IL-4, -5 und -13 unter anderem wahrscheinlich durch direkte Aktivierung des jeweiligen Promotors (Hoshino 2004; Weidinger 2004). Die die Th2-Immunantwort charakterisierenden Zytokine IL-4 und IL-13 induzieren den Isotypenwechsel in B-Zellen hin zur IgE-Produktion, IL-4 aktiviert zusätzlich Mastzellen und IL-5 vermittelt die Amplifikation und Aktivierung der eosinophilen Granulozyten als Schlüsselzellen der allergischen Entzündung (Umetsu 2007).

1.2.1.2 Th1-Zellen

Phagozytierende Zellen wie Makrophagen und DCs sind die wesentlichen Zellen der angeborenen, unspezifischen Abwehr. Insbesondere plasmazytoide (p)DCs exprimieren pattern recognition receptors (PPRs) wie Toll-like-Rezeptoren (TLR) für so genannte microorganism associated molecular patterns (MAMPs), invariante und konsistente molekulare Strukturen von Mikroorganismen, vor allem Bakterien. Die Aktivierung der PPRs führt MAMP-abhängig zur Signaltransduktion und Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und der Mitogen aktivierten Proteinkinase (MAPK), die die Transkription proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , IL-6 und IL-12 und die Expression kostimulatorischer Moleküle wie CD40 und CD80/CD86 nach sich ziehen (kürzlich zusammengefasst von (Kaisho 2006)). Nach Aktivierung durch intrazelluläre Pathogene produzieren reife CD8a⁺ pDCs unter anderem IL-12, IL-23 und IFN- α . IL-12 aktiviert über die β 2-Untereinheit des IL-12-Rezeptors der CD4⁺ Th-Zelle Jak2 und damit nachgeschaltet STAT4,

das wahrscheinlich über eine direkte Wirkung auf den IFN- γ -Promotor die IFN- γ -Produktion induziert. IL-12 kann STAT4 zusätzlich über die Aktivierung der MAPK p38 aktivieren und verstärkt so die Th1-Immunantwort. Das autokrin von T-Zellen sezernierte IFN- γ aktiviert über den IFN- γ -Rezeptor der T-Zelle JAK1, die die Transkriptionsfaktoren STAT1 und diesem nachgeschaltet T-box expressed in T-cells (T-bet) aktiviert. T-bet dient als „master controller“ der Th1-Immunantwort vor allem ihrer Aufrechterhaltung und wirkt wahrscheinlich indirekt durch Suppression von GATA3 (Usui 2006). Das die Th1-Immunantwort charakterisierende Zytokin IFN- γ aktiviert im Rahmen der Abwehr gegen Bakterien, Pilze und Viren Makrophagen und stimuliert B-Zellen zur IgG-Produktion (Umetsu 1997).

1.2.2 Regulatorische T-Zellen

Physiologischerweise reagiert das Immunsystem nicht auf körpereigene Moleküle (Autoantigene) oder harmlose Umweltantigene. Nach dem heutigen Wissensstand wird dieses Phänomen der (antigenspezifischen) Toleranz durch so genannte regulatorische CD4⁺ T-Zellen (Tregs) vermittelt. T-Zellen, die körpereigene Moleküle erkennen, werden während ihrer Entwicklung im Thymus durch den Prozess der sogenannten „negativen Selektion“ beseitigt. Natürlicherweise vorkommende Tregs (nTregs) entwickeln sich durch positive Selektion im Thymus, unterscheiden Fremd- von Selbstantigen und wirken antigenunabhängig immunsuppressiv. Ihre Bedeutung liegt vor allem in der Verhinderung der Autoimmunität. Als Marker exprimieren sie konstitutiv CD25, die IL-2-Rezeptor- α -Kette, und den Transkriptionsfaktor forkhead box protein (Foxp3). Neben den nTregs entwickeln sich in der Peripherie nach Kontakt mit einem Fremdanigen aus bisher nicht eindeutig bekannten (CD25⁻) Vorläuferzellen eine heterogene Gruppe adaptiver, antigenspezifischer Tregs (aTregs). Ihre Identifikation ist schwierig, da sie CD25 und Foxp3 erst im Laufe ihrer Entwicklung und nur zum Teil exprimieren (Li 2006). Einige aTregs exprimieren GATA3, den „master controller“ der Th2-Immunantwort, und Foxp3 und produzieren IL-10 (Akbari 2002), andere exprimieren Foxp3 und produzieren TGF- β (Ostroukhova 2004); eine weitere Gruppe der aTregs exprimieren T-bet als „master controller“ der Th1-Immunantwort und Foxp3 und produzieren IL-10 und IFN- γ (Stock 2004). Atregs vermitteln antigenspezifisch Toleranz gegenüber harmlosen Fremdanigenen, wie den Allergenen.

2. Immunmodulatorische Therapiekonzepte

Bisherige antientzündliche Therapien mit Antihistaminika oder Steroiden vermindern zwar kurzfristig Symptome oder verhindern sekundär das Auftreten einer allergischen Reaktion, wie zum Beispiel einen Asthmaanfall, sind jedoch mit Nebenwirkungen behaftet und wirken nicht kurativ (Spahn 2002). Zahlreiche Allergene, insbesondere Inhalationsallergene, wie Pollen, sind ubiquitär vorkommende Antigene, deren Expositionsvermeidung zur Prävention einer Sensibilisierung oder späteren allergischen Reaktion nicht durchführbar oder nicht effizient erscheint (Marks 2006). Die einzige, bisher angewandte kurative Therapie ist die spezifische Immuntherapie, bei der ein Allergen entweder subcutan oder sublingual in ansteigender Dosierung verabreicht wird, um so eine allergenspezifische Toleranz zu induzieren. Sie wird als allergenspezifische Therapie bei Patienten mit bestimmten Allergien eingesetzt, ihre Wirksamkeit ist nicht sicher, Nebenwirkungen wie der anaphylaktische Schock können bedrohlich sein.

Neue immunmodulatorische Konzepte sollen nun durch Unterstützung natürlich vorkommender, spezifischer Regulatoren ein Übergewicht der allergeninduzierten Th2-Immunantwort verhindern und die immunologische Balance wahren, um so bereits die allergische Sensibilisierung als ersten Schritt der atopischen Krankheitskarriere insbesondere bei Hochrisikokindern zu verhindern (Kurukulaaratchy 2005).

2.1 Suszeptibilität eines Organismus gegenüber allergischen Erkrankungen

Zur Entwicklung immunmodulatorischer Konzepte sind Kenntnisse über die Ursache, warum ein gesunder, nicht-atopischer Organismus nicht allergisch reagiert, und warum ein anderer, offensichtlich suszeptibler Organismus allergisch reagiert, erforderlich. Bestimmte genetische Polymorphismen können prinzipiell Hinweise auf die Pathophysiologie bestimmter Erkrankungen liefern und möglicherweise Angaben zu der Suszeptibilität eines Organismus gegenüber diesen Erkrankungen machen.

Allergische Erkrankungen als Th2-Erkrankungen gehören wie rheumatische Erkrankungen oder chronisch entzündliche Darmerkrankungen als Th1-Erkrankungen zu den chronisch

inflammatorischen Erkrankungen. Diesen komplex genetischen Erkrankungen wurden gemeinsame genetische Hintergründe zugeschrieben (Becker 1998, Cookson 1999). Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein Komplex aus bestimmten Genen für chronisch inflammatorische Erkrankungen verantwortlich sein könnte (Cookson 1999) und sich folglich diese Erkrankungen möglicherweise in ihrer Pathophysiologie ähneln. Die Suszeptibilität eines Organismus für die Entwicklung einer chronisch inflammatorischen Erkrankung könnte mit Hilfe dieses Genkomplexes beschrieben und „Hochrisikopatienten“ ermittelt werden.

P1: Heinzmann A, Jerkic SP, Ganter K, Kurz T, Blattmann S, Schuchmann L, Gerhold K, Berner R, Deichmann KA. *Association study of the IL13 variant Arg110Gln in atopic diseases and juvenile idiopathic arthritis.* J Allergy Clin Immunol 2003; 112.

In einer ersten Studie wurde erstmals eine Genvariante gleichzeitig bei einer Th1- und einer Th2-Erkrankung untersucht, um zu klären, inwieweit der Polymorphismus Arg110Gln im IL-13 Gen bei Kindern mit einem Asthma bronchiale oder einer juvenilen idiopathischen Arthritis mit beiden Erkrankungen assoziiert war und inwieweit diese mögliche Assoziation das Th1-/ Th2-Paradigma reflektierte. Die 110Gln-Variante war einerseits mit einem erhöhten Seramtiter des Gesamt-IgE assoziiert, andererseits wurde sie seltener bei Kindern mit einer juvenilen idiopathischen Arthritis gefunden. Dieselbe Genvariante könnte somit, dem Th1-/ Th2-Antagonismus entsprechend, vor einer Erkrankung schützen, während sie ein Individuum suszeptibel für die andere Erkrankung macht.

P2: Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA. *Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma*. Allergy 2004; 59.

In einer zweiten Studie wurden fünf Polymorphismen (607C, 137C, 113G, 127T, and 133G) in dem Gen, das für das Th1-induzierende Zytokin IL-18 kodiert, bei Kindern mit einem Asthma bronchiale oder einer juvenilen idiopathischen Arthritis untersucht. Hier fanden sich keine Assoziationen beider Erkrankungen mit einem der Polymorphismen. Die untersuchten Polymorphismen im IL-18-Gen könnten nun einerseits funktionell unbedeutend sein, andererseits könnte die Funktion des IL-18 im Kontext beider Erkrankungen, des Th2-assoziierten Asthma bronchiale wie auch der Th1-assoziierten juvenilen idiopathischen Arthritis, zu komplex sein, um einer einfachen Assoziationsstudie zugänglich zu sein.

2.2 Immunmodulatorische Therapiekonzepte auf der Basis der molekularen Mechanismen atopischer Erkrankungen

P3: Gerhold K, Darcan Y, Hamelmann E. Molecular Mechanisms of Allergic Diseases: *Current Concepts and Application of Prevention Strategies*. *Asthma, Allergy and Clin Immunol* 2007; 3.

In dieser Übersichtsarbeit werden aktuelle experimentelle immunmodulatorische Ansätze vorgestellt und deren prinzipielle Mechanismen basierend auf den Mechanismen der allergischen Sensibilisierung erläutert.

Denkbare Wege der Immunmodulation zur Prävention allergischer Erkrankungen stellen die direkte Suppression der übergewichtigen Th2-Immunantwort, die Antagonisierung der Th2-Immunantwort mittels Induktion einer Th1-Immunantwort oder die Induktion regulatorischer T-Zellen, die zur Entwicklung einer physiologischen Toleranz führen, dar. Diese Konzepte der Immunmodulation werden mit den folgenden eigenen Arbeiten näher erläutert.

2.3 Immunmodulation durch Suppression der Th2-Immunantwort

P4: Bunikowski R, Gerhold K, Bräutigam M, Hamelmann E, Renz H, Wahn U. *Effect of low-dose cyclosporin a microemulsion on disease severity, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha production in severe pediatric atopic dermatitis.* Int Arch Allergy Immunol 2001; 125.

Bei der atopischen Dermatitis als Th2-gerichtete Erkrankung nehmen die hier speziell verstärkt freigesetzten, proinflammatorischen Zytokine IL-6, TNF- α und IL-8 eine besondere Rolle in der Pathogenese der akuten Entzündung der Haut ein. IL-6 verstärkt die IL-4-induzierte IgE-Produktion, führt zur T-Zell-Differenzierung und -aktivierung und zur Freisetzung der Akute-Phase-Proteine aus Hepatozyten (Maggi 1989, Vercelli 1989, Kishimoto 1989). TNF- α führt zur Expression der Adhäsionsmoleküle endothelial selectin (ELAM-1), intercellular adhesion molecule (ICAM-1) und vascular cell adhesion molecule (VCAM-1), die für die Einwanderung der Entzündungszellen erforderlich sind. Zusammen mit IL-1 induziert TNF- α die Produktion von IL-8 durch Monozyten, Epithel- und Endothelzellen. IL-8 fungiert als Chemokin für neutrophile Granulozyten, Makrophagen und T-Lymphozyten, die in die entzündete Haut einwandern (Neuber 1991, Neuber 1995). In einigen klinischen Studien profitierten Kinder mit einer schweren atopischen Dermatitis von einer systemischen Therapie mit dem Immunsuppressivum Cyclosporin A (Berth-Jones 1996, Zurbriggen 1998, Bunikowski 2001). Cyclosporin A inhibiert die T-Zellaktivierung und Zytokinproduktion und könnte damit entscheidend die Immunpathogenese der atopischen Dermatitis beeinflussen (van Jost 1992, Bunikowski 2001). In der folgenden klinischen Studie wurde daher der immunmodulatorische Effekt einer systemischen Therapie mit Cyclosporin A bei 10 Kindern mit schwerer atopischer Dermatitis untersucht. Die achtwöchige Therapie mit Cyclosporin A in einer initialen Dosis von 2,5 mg/kg/ Tag und einer maximalen Dosissteigerung auf 5 mg/kg/ Tag führte zu einer deutlichen Verbesserung der klinischen Symptomatik, anhand einer Verminderung des SCORAD-Scores von 71 auf 22 gemessen, assoziiert mit einer signifikanten Verminderung der IL-6- und IL-8-Produktion durch mononukleäre Zellen des peripheren Blutes. In einem vierwöchigen

Nachbeobachtungszeitraum kam es bei sieben der zehn Kinder zu keiner erneuten Exazerbation der atopischen Dermatitis.

P5: Blumchen K, **Gerhold K**, Thorade I, Seib C, Hamelmann E. *Oral administration of desloratadine prior to sensitization prevents allergen-induced airway inflammation and hyperreactivity in mice.* Clin Exp Allergy 2004; 34.

Histamin wird von Mastzellen und basophilen Granulozyten produziert und im Rahmen der allergischen Soforttypreaktion nach deren Aktivierung freigesetzt (Hill 1990). Die IgE-vermittelte Mastzellaktivierung spielt eine zentrale Rolle bei der allergeninduzierten Bronchuskonstriktion der frühen asthmatischen Reaktion (Galli 1993). Die Bedeutung des Histamins für die Entwicklung einer allergeninduzierten Entzündung und Atemwegshyperreaktivität, die entscheidend zur Pathogenese des allergischen Asthma bronchiale beitragen, wird dagegen kontrovers diskutiert (White 1987). Die Therapie des allergischen Asthma bronchiale mit Antihistaminika zeigte sich insgesamt als ineffektiv; Histamin (H)1-Rezeptorantagonisten gehören dementsprechend auch nicht zur Standardtherapie des Asthma bronchiale (White 1987). Die Aktivierung der H1- (Caron 2001 (1), Caron 2001 (2), Jutel 2001) oder H2-Rezeptoren (Elenkov 1998, Lagier 1997, Sirois 2000, Mazzone 2001) auf verschiedenen Zelltypen wie APCs oder T-Zellen oder deren Blockade mittels Rezeptorantagonisten *in vitro* führte dagegen zu einer veränderten Expression kostimulatorischer Moleküle und zu einer modulierten Produktion verschiedener Zytokine. Diese immunmodulatorischen Eigenschaften des Histamins *in vitro* veranlassten zu der Hypothese, dass Antihistaminika nicht nur eine Soforttypreaktion, sondern auch primär allergeninduzierte Immunantworten modulieren könnten. In der Tat zeigten klinische Studien, dass bei Hochrisikokindern, die an einer atopischen Dermatitis litten, die Therapie mit H1-Rezeptorantagonisten das Risiko für die spätere Entwicklung eines Asthma bronchiale verminderte (Iikura 1992, Bustos 1995, ETAC 1998). In der folgenden Studie wurde daher die immunmodulatorische Kapazität des H1-Rezeptorantagonisten der dritten Generation, Desloratadin, auf die Entwicklung einer allergenvermittelten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung in der Maus untersucht. Desloratadin wurde oral vor und während der systemischen Sensibilisierung der Tiere mit dem Modelallergen Ovalbumin (OVA) verabreicht. Desloratadin supprimierte in diesem Modell die allergenspezifische Th2-Immunantwort und IgG1-Produktion als Ausdruck der allergischen Sensibilisierung. Nach Allergenprovokationen über die Atemwege entwickelten die mit Desloratadin behandelten

Tiere auch keine allergenvermittelte Atemwegsentzündung und -hyperreaktivität, die mittels Bodyplethysmographie *in vivo* gemessen wurde, mehr. Diese Daten zeigten, dass Histamin eine wichtige immunmodulatorische Funktion einnimmt und Histaminantagonisten somit eine mögliche Rolle bei der primären Allergieprävention spielen könnten.

2.4 Immunmodulation durch Induktion der Th1-Immunantwort

2.4.1 Regulation durch CD8⁺ Zellen

P6: Stock T, Kallinich T, Akbari O, Gerhold K, Quarcoo D, Wahn U, Umetsu DT, Hamelmann E. CD8⁺ T cells regulate immune responses in a murine model of allergen-induced sensitization and airway inflammation. *Eur J Immunol* 2004; 34.

IFN- γ -produzierende CD8⁺ T-Zellen wurden als Suppressor-T-Zellen beschrieben, die der Initiierung allergischer Reaktionen entgegenwirkten (McMenamin 1993, Renz 1994) und deren Induktion möglicherweise zur Aufhebung der Th2-/ Th1-Imbalance und damit zur präventiven Immunmodulation beitragen könnte. So verhinderten CD8⁺ T-Zellen die allergeninduzierte IgE-Produktion und Atemwegshyperreaktivität in einem Modell, in dem Mäuse mit OVA über die Atemwege sensibilisiert wurden. In einem weiteren Tiermodell konnte gezeigt werden, dass der protektive Effekt einer allergenspezifischen DNA-Vakzinierung mittels Transfer CD8⁺ T-Zellen überragbar war (Hsu 1996). Scheinbar im Widerspruch dazu steht die Beobachtung, dass IFN- γ zur Verstärkung einer allergischen Entzündung führen kann (Cembrzynska-Nowak 1993, Hansen 1999). Die Depletion CD8⁺ T-Zellen verhinderte in einem weiteren Tiermodell die Entwicklung einer allergenvermittelten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung, wobei diese CD8⁺ T-Zellen aus peribronchialen Lymphknoten stammten und hier IL-5 produzierten (Hamelmann 1996).

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit die Funktion der CD8⁺ T-Zellen in naiven und sensibilisierten Tieren in unterschiedlichen Geweben untersucht. Hier zeigte sich eine vom Kompartiment abhängige Funktion dieser Zellen: In sensibilisierten Tieren produzierten CD8⁺ T-Zellen der Lunge vornehmlich Th2-Zytokine, während CD8⁺ T-Zellen der Milz Th1-Zytokine produzierten. Eine Depletion CD8⁺ T-Zellen vor allergischer Sensibilisierung resultierte in einer verstärkten allergeninduzierten Th2-immunantwort und Atemwegsentzündung.

2.4.2 Die „Hygiene-Hypothese“

Die von Strachan 1998 geprägte „Hygiene-Hypothese“ ist aktuell die populärste Erklärung für die hohe Prävalenz allergischer Erkrankungen in Ländern mit einem westlichen Lebensstil: Der hohe westliche Lebensstandard ist verbunden mit einem Leben in kleinen Familien, mit einer geringeren Häufigkeit von Infekten und einem frühen Einsatz antibiotischer Therapien, so dass das sich entwickelnde Immunsystem eine nur geringe Stimulation durch mikrobielle Antigene erfährt. Folge ist die Imbalance des Immunsystems mit einem Übergewicht der Th2-gerichteten Immunantwort (Strachan 1998, Liu 2006). Der „Hygiene-Hypothese“ folgend, wurde die Stimulation des Immunsystems durch die Exposition mit bestimmten Bakterien (Herz 1998, Trujillo 2003), Würmern (Maizels 2003) oder Viren (Illi 2001) in tierexperimentellen und epidemiologischen Studien als potentiell protektiv gegenüber der Entwicklung allergischer Erkrankungen wie dem Asthma bronchiale beschrieben.

In den vorgestellten Arbeiten wurde der mögliche immunmodulierende, protektive Effekt der Exposition mit mikrobiellen Antigenen in unserem Mausmodell für die allergische Atemwegsentzündung untersucht. Dieses Mausmodell reflektiert die drei wesentlichen Merkmale des allergischen Asthma bronchiale, die allergische Sensibilisierung, die eosinophile Atemwegsentzündung und die Atemwegshyperreaktivität. In diesem Modell werden BALB/c-Mäuse, die, genetisch determiniert, hohe Serumspiegel des allergeninduzierten Immunglobulins (IgE) produzieren, systemisch mit OVA als Modellallergen sensibilisiert. Die Tiere entwickeln daraufhin hohe Serumtiter an allergenspezifischem IgE und eine zelluläre Immunantwort mit einem überwiegenden Th2-Zytokinprofil. Wiederholte Atemwegsexpositionen mit dem gleichen Allergen führen in den sensibilisierten Tieren zu einer Atemwegsentzündung, charakterisiert durch einen Influx eosinophiler Granulozyten in die mittel-großen und kleinen Atemwege, sowie zu einer erhöhten Atemwegsreaktivität, *in vivo* mittels Ganzkörperplethysmographie gemessen (Hamelmann 1999).

2.4.2.1 Impfungen

P7: Minne A, Jaworska J, Gerhold K, Ahrens B, Vanbever R, Matricardi PM, Schmidt AC, Hamelmann E. *Intranasal Delivery of Whole Influenza Vaccine Prevents Subsequent Allergen-Induced Sensitization and Airway Disease in Mice*. Clin Exp Allergy 2007; 37.

Obwohl akute Virusinfektionen der Atemwege akute Atemwegsobstruktionen („wheezing“) oder Exazerbationen eines bestehenden Asthmas bei Kindern hervorrufen können (Message 2002), wurde insbesondere die in früher Kindheit stattfindende intensive Exposition mit pneumotropen Viren wie den Influenza-Viren als potentiell protektiv wirksam gegen die Entwicklung eines späteren Asthma bronchiale beschrieben (Illi 2001, Kurukulaaratchy 2003, Parkin 2002). Als möglicher immunmodulatorischer Mechanismus konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass lebende Influenza-Viren vom Wildtyp lokal eine Th1-Immunantwort induzieren, die die allergenbedingte Th2-Immunantwort supprimiert (Marsland 2004, Wohlleben 2003). Influenzavakzinen werden heute weltweit als Gripeschutz eingesetzt. In der folgenden Arbeit wurde nun der Effekt einer ganzzellulären Influenzavakzine auf eine spätere allergische Sensibilisierung in der Maus untersucht. Die intranasale Applikation einer ganzzellulären Influenzavakzine verhinderte in diesem Mausmodell die Entwicklung einer späteren allergenbedingten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung. Dieser präventive Effekt der Vakzine war assoziiert mit einem Wechsel von einer überwiegenden Th2- hin zu einer überwiegenden Th1-Immunantwort.

P8: Gerhold K, Grüber C, von Stuckrad S, Avagyan A, Quarcoo D, Ahrens B, Wahn U, Hamelmann E. *Common vaccine antigens inhibit allergen-induced sensitization, airway inflammation, and airway hyperresponsiveness in a murine model.* Allergy 2006; 61.

Der Effekt von Impfungen auf die Entwicklung allergischer Erkrankungen wird insgesamt kontrovers diskutiert. Eine positive Korrelation zwischen Impfung und Allergie könnte als Folge der zufälligen Koinzidenz der Manifestation allergischer Symptome mit der ersten Impfung im Lebensalter von drei Monaten vorliegen. Einige retrospektive Studien zeigten unter Kindern mit einer geringeren Vakzinierungsrate gegen Diphtherie, Tetanus oder Pertussis eine geringere Prävalenz atopischer Erkrankungen (Odent 1994, Kemp 1997, Hurwitz 2000). Andererseits wurde in einer großen Datenbank einer Gesundheitsorganisation keine Assoziation zwischen der Impfung gegen Diphtherie, Tetanus und Pertussis und dem Auftreten des Asthma bronchiale im Kindesalter gefunden (DeStefano 2002). In einer Interventionsstudie hatte die Impfung gegen Pertussis ebenfalls keinen Effekt auf die Atopierate (Nilsson 1998). Im Gegensatz dazu wurde in einer longitudinal verfolgten Geburtskohorte eine inverse Assoziation zwischen der Gesamtvakzinierungsdosis einerseits und der Prävalenz der allergischen Sensibilisierung und atopischer Erkrankungen andererseits beschrieben (Grüber 2003). Vakzine wie Diphtherie, Tetanustoxoid oder Pertussis induzieren eine antigenspezifische IgE-Produktion, die bei Vorliegen einer atopischen Prädisposition verstärkt und prolongiert auftritt (Albersee 1995, Dannemann 1996, Nilsson 1998). Die routinemäßig durchgeführten Impfungen in der Kindheit könnten also zu dem Anstieg der Prävalenz allergischer Erkrankungen beigetragen haben. Andererseits konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Impfung mit der ganzzellulären Pertussisvakzine dosisabhängig mit einer verminderten IgE- und IgG4-Produktion gegen Diphtherie und Tetanustoxoid assoziiert war (Grüber 2001). Diese Daten luden nun zu der Hypothese ein, die gleichzeitige Exposition mit Impfantigenen und Allergenen könnte vor der Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung schützen. Daher wurde der immunologische Effekt der Vakzinierung gegen Diphtherie, Tetanus und Pertussis auf die Entwicklung einer allergenvermittelten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung in der Maus untersucht. In der Maus supprimierte die Vakzinierung mit Diphtherie und Tetanustoxoid eine spätere allergische Sensibilisierung und allergeninduzierte

Atemwegsinflammation. Die gleichzeitige Vakzinierung mit der der ganzzellulären Pertussisvakzine verhinderte zusätzlich die Entwicklung einer Atemwegshyperreaktivität, gemessen mittels Bodyplethysmographie *in vivo*. Die Suppression der allergeninduzierten Th2-Immunantwort war assoziiert mit der Induktion einer unspezifischen Th1-Immunantwort. Vakzinantigene könnten demzufolge allergische Immunreaktionen unspezifisch gegen eine Reihe von Allergenen verhindern.

2.4.2.2 Der „Farm-Effekt“

Neben den Impfungen gehört der so genannte „Farm-Effekt“, der auf eine in frühester Kindheit beginnende, intensive Exposition mit organischen Stäuben und damit auch einer Vielzahl mikrobieller Antigene wie sie vor allem in Ställen auf Bauernhöfen vorkommen, zurückgeht, zu den am besten beschriebenen Umweltfaktoren, die mit einem verminderten Atopierisiko assoziiert sind (Schaub 2006). In der Maus konnte gerade kürzlich belegt werden, dass diese organischen Stäube eine allergische Sensibilisierung und Atemwegsentzündung tatsächlich verhindern (Peters 2006). Zahlreiche tierexperimentelle und klinische Studien haben insbesondere den allergiepräventiven Effekt von Lipopolysacchariden (LPSs), Wandbestandteile gramnegativer Bakterien, als potentiell immunmodulatorisch wirksame Einzelkomponente organischer Stäube untersucht.

LPSs binden im Serum an ihre löslichen Rezeptoren LPS-bindendes Protein (LBP) und CD14 und aktivieren im Komplex mit ihren Trägermolekülen, die katalytisch wirken, TLR-4. Die intrazelluläre Domäne des TLR-4 wird von dem Adaptermolekül MyD88 getragen, das unter anderem mit der zytoplasmatischen Proteinkinase IL-1 receptor associated kinase (IRAK)4 assoziiert ist. Die Aktivierung von TLR-4 führt über MyD88 zur Aktivierung von IRAK4 und weiteren Proteinkinasen (TRAF6, TAK1, IKK β), die nach Phosphorylierung von I κ B zur Aktivierung von NF- κ B führen (Kaisho 2006). Humane Studien liefern Hinweise dafür, dass eine verminderte Ansprechbarkeit von DCs auf LPSs infolge von Polymorphismen für CD14 und TLR-4 mit einem erhöhten Atopierisiko assoziiert ist (zusammengefasst in (Yang 2006)).

P9: Gerhold K, Blümchen K, Bock A, Stock P, Kallinich T, Seib C, Löhning M, Wahn U, Hamelmann E. *Endotoxins Prevent Murine IgE Production, Th2 Immune Responses and Development of Airway Eosinophilia, but not Airway Hyperreactivity.* J Allergy Clin Immunol 2002; 110.

LPSs in hohen Konzentrationen wurden in Ställen, im Hausstaub, in Matratzen und in Rohmilch gefunden, einhergehend mit einer verminderten Inzidenz atopischer Erkrankungen unter Kindern, die auf Bauerhöfen lebten (von Mutius 2000, Riedler 2001). In einer Studie, in der die Entwicklung eines Asthmas bei 61 Säuglingen untersucht wurde, korrelierten niedrige LPS-Konzentrationen im Hausstaub mit einem erhöhten Risiko einer Th2-assoziierten allergischen Sensibilisierung, höhere LPS-Konzentrationen dagegen mit einer erhöhten Frequenz IFN- γ -produzierender CD4⁺ (Th1-)Zellen (Gereda 2000). Andererseits ist gut bekannt, dass Expositionen mit LPSs mit Exazerbationen eines bestehenden Asthma bronchiale einhergehen (Michel 1996, Reed 2001). Die Exposition mit LPSs könnte also die allergische Sensibilisierung und Entwicklung eines Asthmas durch differenzielle immunmodulatorische Mechanismen beeinflussen. Daher wurde der immunmodulatorische Effekt einer systemischen LPS-Exposition vor erstem Allergenkontakt auf die allergische Sensibilisierung und spätere Atemwegsentzündung und der therapeutische Effekt einer LPS-Exposition nach allergischer Sensibilisierung auf die Atemwegsentzündung in einem Mausmodell für die allergeninduzierte Sensibilisierung und Atemwegsentzündung untersucht. Die systemische Exposition naiver Tiere mit LPS verhinderte eine spätere allergische Sensibilisierung und Atemwegsinfektion, die lokale Exposition mit LPS vor Allergenprovokationen über die Atemwege verhinderte die Entwicklung einer Atemwegsentzündung in bereits sensibilisierten Tieren, assoziiert mit einer erhöhten IFN- γ -Produktion durch mononukleäre Zellen der peribronchialen Lymphknoten. Die Entwicklung einer Atemwegshyperreaktivität wurde weder durch die systemische, noch die lokale LPS-Exposition verhindert. In beiden experimentellen Ansätzen war der protektive LPS-Effekt abhängig von der Präsenz des Th1-induzierenden Zytokins IL-12 und wurde durch systemische Applikation eines mononukleären Antikörpers gegen IL-12 vor LPS-Exposition aufgehoben.

P10: Gerhold K, Avagyan A, Seib C, Frei R, Steinle J, Ahrens A, Dittrich AM, Blumchen K, Lauener R, Hamelmann E. Prenatal initiation of endotoxin airway exposure prevents subsequent allergen-induced sensitization and airway inflammation in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118.

Der genaue Zeitpunkt der allergischen Sensibilisierung ist derzeit strittig und wird in zahlreichen epidemiologischen, klinischen und tierexperimentellen Studien intensiv untersucht. Eine bereits pränatal beginnende und postnatal fortgeführte Exposition mit LPS vor Beginn einer systemischen Sensibilisierung der Jungtiere mit OVA verhinderte in unserem Mausmodell die Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung und Atemwegsentzündung in den Jungtieren. Dieser protektive Effekt auf die allergische Entzündung war assoziiert mit einer verminderten Produktion der Th2-Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13 und einer erhöhten Produktion des Th1-Zytokins IFN- γ durch mononukleäre Zellen der Milz, die *in vitro* mit OVA stimuliert worden waren. Die gleichzeitige Induktion der LPS-Rezeptoren LBP, CD14 und TLR-4 sowie des Th1-kontrollierenden Transkriptionsfaktors T-bet in den Lungengewebe der Jungtiere stellte den wahrscheinlichsten Mechanismus dieses primär präventiven Effektes der pränatal beginnenden LPS-Exposition dar.

2.5 Immunmodulation durch Toleranzinduktion

P11: Gerhold K, Blümchen K, Franke A, Stock P, Hamelmann E. *Exposure to endotoxin in early life and its effect on allergen sensitization in mice.* J Allergy Clin Immunol 2003; 112.

P12: Gerhold K, Blümchen K, Bock A, Franke A, Avagyan A, Hamelmann E.. Endotoxins and allergy: lessons from the murine model. Pathobiology 2002 – 2003; 70.

Kinder, die auf einem Bauernhof aufwachsen, sind nicht nur erhöhten LPS-Konzentrationen, sondern auch einer Vielzahl von Inhalationsallergenen ausgesetzt und dennoch seltener von allergischen Erkrankungen betroffen als Kinder, die in städtischen Regionen aufwachsen. In dem nachfolgenden Modell wurde daher der Effekt einer frühen und repetitiven inhalativen Exposition mit LPS und/ oder mit OVA als Modellallergen auf die Entwicklung einer späteren allergenbedingten Sensibilisierung und Atemwegsentszündung in der neonatalen Maus untersucht. In der neonatalen Maus verhinderte die alleinige repetitive Exposition mit LPS über die Atemwege vor systemischer Allergensensibilisierung nicht eine spätere allergische Sensibilisierung und Atemwegsinfammation, führte jedoch zur erhöhten Produktion des allergenspezifischen IgG2a. Die repetitive Allergenexposition über die Atemwege vor systemischer Allergensensibilisierung verhinderte die Entwicklung einer allergenspezifischen Sensibilisierung, Atemwegsentszündung und –hyperreaktivität und induzierte eine allergenspezifische Toleranz. Die allergenspezifische Toleranzinduktion zeichnete sich durch eine T-Zellanergie und Suppression der Th2- und Th1-Immunantworten durch mononukleäre Zellen der Milz nach Stimulation mit dem Allergen *in vitro* aus. Die gleichzeitige Exposition mit dem Allergen und LPS über die Atemwege vor Allergensensibilisierung führte jedoch nicht nur zu einer allergenspezifischen Toleranz, sondern auch zur Induktion einer unspezifischen Th1-Immunantwort.

P13: Gerhold K, Avagyan A, Reichert E, Bluemchen K, Wahn U, Hamelmann E. Lipopolysaccharides modulate Allergen-specific Immune Regulation in a Murine Model of Mucosal Tolerance Induction. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147.

Die individuelle Immunantwort auf ein Allergen im Hinblick auf die Entwicklung einer allergenspezifischen Sensibilisierung versus einer allergenspezifischen T-Zell-Toleranz könnte also durch die gleichzeitige Aktivierung des unspezifischen, angeborenen Immunsystems mittels bestimmter MAMPs wie LPSs entscheidend beeinflusst werden.

Daher wurde in der folgenden Arbeit der Effekt der LPS-Exposition auf T-Zell-Funktionen während gleichzeitiger allergenspezifischer Toleranzinduktion in der adulten Maus untersucht.

Die einer systemischen Sensibilisierung vorausgehende, intranasale OVA-Exposition supprimierte die Th2-vermittelte Immunantwort und Entzündungsreaktion, einhergehend mit einer erhöhten Frequenz regulatorischer T-Zellen in sensibilisierten und allergenprovozierten Mäusen. LPS in Kombination mit OVA, nicht jedoch LPS allein, verhinderte die Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung und Infiltration der Atemwege mit eosinophilen Granulozyten und führte zu einem erheblichen Anstieg der Serumtiter des allergenspezifischen IgG1 und der Frequenz IL-10- und IFN- γ -produzierender CD4⁺ T-Zellen. Der Transfer CD4⁺ Milzzellen OVA-vorbehandelter Tiere schützte naive Empfängertiere vor der Entwicklung einer allergeninduzierten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung, während der Transfer dieser Zellen von mit OVA und LPS vorbehandelten Tieren nur vor der allergeninduzierten Sensibilisierung schützte. LPS modulierte die mukosale Toleranz durch allergenspezifische IgG1-Produktion und Induktion spezieller CD4⁺ T-Zellen mit einem gemischten regulatorischen und Th1-Phänotyp. Komponenten organischer Stäube könnten dementsprechend wichtige immunmodulatorische Funktionen bei dem natürlichen Erwerb der präventiven allergenspezifischen Toleranzinduktion einnehmen.

3. Diskussion

3.1 Suszeptibilität eines Organismus gegenüber allergischen Erkrankungen

Die Beziehung zwischen dem Auftreten Th2-vermittelter allergischer Erkrankungen und Th1-vermittelter Autoimmunerkrankungen wird kontrovers diskutiert. Kürzlich zeigte eine Studie ein erhöhtes Risiko für die Manifestation einer Autoimmunerkrankung unter Patienten, die an einer allergischen Erkrankung litten (Sheikh 2003). Zwei weitere Studien zeigten die Koexistenz beider Erkrankungen als mögliche Folge des Einwirkens bestimmter Umweltfaktoren, die gleichzeitig die beobachtete Zunahme der Inzidenz beider Erkrankungsentitäten erklären könnten (Kero 2001, Simpson 2002). Die meisten Studien unterstützen jedoch eine inverse Assoziation zwischen dem Vorliegen einer Autoimmunerkrankung und einer allergischen Erkrankung in einem Individuum (Allamore 1998, Benn 2002, Hilliquin 2000, Rudwaleit 2002, Tremlett 2002). Der Polymorphismus Arg110Gln im IL-13-Gen scheint nun bei Kindern für eine erhöhte Suszeptibilität, eine atopische Erkrankung zu entwickeln, verantwortlich zu sein. In der Tat konnte die Genvariante Gln110 mit einer erhöhten Produktion des Th2-Zytokins IL-13 und der erhöhten IgE-Produktion als Risikofaktoren für eine atopische Erkrankung assoziiert gefunden werden (Heinzmann 2000). Die untersuchten Polymorphismen im IL-18-Gen zeigten dagegen in der vorliegenden Studie keine Assoziation zum Vorliegen einer juvenilen idiopathischen Arthritis als Autoimmunerkrankung oder einer allergischen Erkrankung, was jedoch- neben einer fehlenden funktionellen Bedeutsamkeit der untersuchten Polymorphismen- auch daran liegen mag, dass IL-18 eine komplexe Rolle in der Pathogenese der Th1- und Th2-assoziierten Erkrankungen spielt (Hofstra 1998, Kumano 1999, Kodama 2000, Wild 2000).

Die inverse Assoziation zwischen der Manifestation einer atopischen und einer Autoimmunerkrankung bei Vorliegen des Polymorphismus Arg110Gln unterstützt die (stark vereinfachte) Hypothese der Dichotomie des Immunsystems nach Mosmann (Mosmann 1986), auf der sich auch die mögliche Prävention Th2-gerichteter Erkrankungen durch Induktion einer Th1-Immunantwort stützt.

Darüberhinaus ist für die individuelle Indikation und den späteren Einsatz immunmodulatorischer Therapien zur primären Prävention atopischer Erkrankungen die Definition des „Hochrisikopatienten“ maßgeblich. Der „Hochrisikopatient“ definiert sich grundsätzlich durch seine Suszeptibilität für die entsprechende Erkrankung. Direkte prädiktive Faktoren der Suszeptibilität und damit des Erkrankungsrisikos im Sinne eines „biologischen“ Markers für die Gesamtbevölkerung existieren derzeit noch nicht. Die Einschätzung des Erkrankungsrisikos erfolgt nur indirekt über den atopischen Hintergrund eines Patienten; es besteht dann ein erhöhtes Risiko für ein Kind, wenn mindestens ein Elternteil oder ein Geschwister von einer Allergie betroffen sind. Pathogenetisch bedeutsame Polymorphismen, wie hier der Polymorphismus Arg110Gln im IL-13-Gen, könnten kleine Puzzleteile für den angenommenen Genkomplex liefern, der vermutlich für die Entwicklung chronisch entzündlicher Erkrankungen verantwortlich ist, und damit auch prädiktive Faktoren darstellen, die „Hochrisikopatienten“ für allergische Erkrankungen erkennbar werden lassen.

3.2 Immunmodulation durch Suppression der Th2-Immunantwort

Der allergischen Sensibilisierung als Voraussetzung für die Entwicklung einer allergischen Entzündung liegt eine Imbalance des adaptiven Immunsystems mit einer Dominanz der Th2-Immunantwort zugrunde. Die Suppression der überwiegenden Th2-Immunantwort könnte dementsprechend präventiv auf die Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung wirken.

Die experimentelle Blockade der Th2-Zytokine IL-4 und IL-5 durch entsprechende Antikörper, lösliche Rezeptoren oder in den jeweiligen gene-knock-out-Mausstämmen führte im Tiermodell direkt zur Suppression der Th2-Immunantwort und nachfolgend der allergischen Atemwegsinfammation (Renz 1996, Hamelmann 1999). In klinischen Studien konnte dagegen mittels Antikörpern direkt gegen das Effektorzytokin IL-5 keine suffiziente Wirkung auf ein bestehendes Asthma bronchiale erlangt werden. Eine Suppression der Th2-Immunantwort scheint dementsprechend, wahrscheinlich aufgrund der Komplexität der Pathogenese der allergischen Entzündung, vor Sekretion der direkten Entzündungsmediatoren erforderlich zu sein.

Das insbesondere in der Transplantationsmedizin eingesetzte Immunsuppressivum Cyclosporin A interagiert primär mit T-Zellen, in denen es an das intrazelluläre Protein Cyclophilin bindet. Dieser Komplex hemmt Calcineurin, eine Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Proteinphosphatase, die in die Initiierung der Transkription bestimmter Zytokingene involviert ist (Schreiber 1992, Liu 1991). Die systemische Therapie mit Cyclosporin A führte zur verminderten *in vitro* IL-5-Produktion mononukleärer Zellen von Patienten mit einer atopischen Dermatitis (Mori 1994). In der hier vorgestellten Arbeit supprimierte die Therapie mit Cyclosporin A die Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8, die bei der atopischen Dermatitis maßgeblich die dominierende Th2-Immunantwort unterhalten und die lokale Entzündungsreaktion potenzieren (McHugh 1994). Folge war nicht nur eine akute Reduktion der Krankheitssymptome mit einer verminderten Entzündung der Haut, einem deutlich verringertem Juckreiz und einer insgesamt verbesserten Schlafqualität, sondern auch ein nachhaltiger präventiver Effekt mit einer bleibenden, deutlich verminderten Entzündungsaktivität der Haut während des Beobachtungszeitraumes nach Beendigung der Therapie. Der präventive Effekt der Therapie mit Cyclosporin A bleibt jedoch auf die tertiäre und sekundäre Prävention bei schweren Krankheitsverläufen der atopischen Dermatitis beschränkt, da die potentiellen Nebenwirkungen dieser immunsuppressiven Therapie auch bei geringer Dosierung den Einsatz zur primären Prävention bei Hochrisikopatienten nicht zulassen.

Desloratadin als H1-Rezeptorantagonist der dritten Generation wird dagegen nebenwirkungsarm insbesondere bei der allergischen Rhinokonjunktivitis eingesetzt. In dem vorliegenden Tiermodell führte systemisch und vor der Allergensensibilisierung verabreichtes Desloratadin zu einer späteren Suppression der allergeninduzierten Th2-Immunantwort und der eosinophilen Atemwegsentzündung. Bisher war gezeigt worden, dass Desloratadin *in vitro* zur verminderten Expression von Adhäsions- und kostimulatorischen Molekülen wie ICAM-1 oder HLA-DR auf nasalen Epithelzellen führen, die IL-6- und IL-8-Produktion durch Endothelzellen supprimieren und die RANTES-Produktion durch Epithelzellen inhibieren kann (Vignola 1995, Lippert 1995, Bayram 1999). In der vorliegenden Arbeit war insbesondere die IL-5-Produktion durch peribronchiale Lymphknotenzellen in mit Desloratadin vorbehandelten und anschließend sensibilisierten

Tieren im Vergleich zur Produktion bei nur sensibilisierten Tieren vermindert. Die supprimierte Th2-Immunantwort könnte Folge der Modulation der histamininduzierten Effekte auf APCs oder T-Zellen sein. Histamin führte *in vitro* zur Induktion kostimulatorischer Moleküle auf humanen unreifen DCs (Caron 2001), zur verminderten Produktion des Th1-induzierenden Zytokins IL-12 (Jutel 2001) und zur verstärkten IL-10-Produktion (Mazzoni 2001) durch LPS-stimulierte DCs. Histamin selbst präferiert dementsprechend die Entwicklung einer Th2-Immunantwort (Mazzoni 2001), die durch Blockade des Histamins mittels Rezeptorantagonisten aufgehoben werden konnte (Caron 2001). Die Suppression der Th2-Immunantwort in der vorliegenden Arbeit war dementsprechend möglicherweise Folge einer Modulation der APC-Funktionen. Der präventive Effekt des Desloratadins auf die Entwicklung einer allergenspezifischen Th2-Immunantwort war assoziiert mit einer Suppression der Atemwegsentzündung und Atemwegshyperreaktivität. Dieser Effekt wurde bereits in klinischen Studien bestätigt: Säuglinge und Kleinkinder mit einem hohen Risiko, zukünftig ein Asthma bronchiale zu entwickeln, wurden präventiv mit einem H1-Rezeptorantagonisten behandelt und zeigten eine geringere Inzidenz eines späteren allergischen Asthmas als die Kinder der entsprechenden mit Placebo behandelten Gruppe (Bustos 1995).

Histamin als primärer Mediator der allergischen Soforttypreaktion nimmt also eine wichtige immunmodulatorische Rolle in der Th2-/ Th1-Balance des adaptiven Immunsystems ein und könnte als Target immunmodulatorischer Konzepte zur Prävention allergischer Erkrankungen fungieren.

3.3 Immunmodulation durch Induktion der Th1-Immunantwort

Nach der erstmals von Mosmann beschriebenen antigenabhängigen Dichotomie der adaptiven zellulären Immunantwort (Mosmann 1986) ist die Th1-Immunantwort der natürliche Antagonist der Th2-Immunantwort. Die natürliche Exposition mit mikrobiellen Antigenen als TLR-Liganden über den Darm, die Haut und die Atemwege haben ebenso wie die Auseinandersetzung des Organismus mit bestimmten Infektionskrankheiten wahrscheinlich wesentlichen Anteil an der normalen Entwicklung des Immunsystems und

damit auch an der Balance der adaptiven Th1-/ Th2-Immunantwort. Die Suppression der allergenbedingten Sensibilisierung und Atemwegsentzündung gelang in der Maus indirekt über die Gabe rekombinanter Zytokine, wie IL-12 und IL-18 als Th1-Induktoren und IFN- γ als Th1-Zytokin (Kips 1996, Lack 1996). Der direkte Einsatz von Th1-Zytokinen (IFN- γ , IL-12) zur Suppression Th2-vermittelter allergischer Erkrankungen in klinischen Studien scheiterte dagegen an ihrer geringen Effektivität oder hohen Nebenwirkungsraten (O'Byrne 2006). Eine Reihe von Präventionskonzepten verfolgt nun die Suppression der Th2-Immunantwort durch Induktion von Th1-Effektorzellen mittels mikrobieller Antigene. So verhinderte die Induktion einer Th1-Immunantwort durch das Mycobacterium Bacillus Calmette Guérin die Entwicklung einer allergeninduzierten Atemwegsentzündung und -hyperreaktivität in der Maus (Erb 1998, Herz 1998). Ein ähnlicher Effekt wurde durch CpG-Motive beschrieben: Als Bestandteile mykobakterieller DNA lösten sie im murinen Organismus eine Th1-Immunantwort aus, die die allergische Sensibilisierung und Atemwegshyperreaktivität supprimierte (Sur 1999).

Natürlicherweise können IFN- γ -produzierende CD8⁺ T-Zellen aus der Milz der Imbalance des Immunsystems entgegenwirken und den Organismus vor einer allergischen Sensibilisierung wahrscheinlich durch Hemmung sich differenzierender und proliferierender CD4⁺ T-Zellen schützen (Dhodapkar 2001, Gilliet 2002). Nach einer bereits erfolgten Sensibilisierung spielen sie dagegen wahrscheinlich keine entscheidende Rolle mehr. Die Depletion CD8⁺ T-Zellen vor einer allergischen Sensibilisierung führte in der vorliegenden Arbeit zu einer verstärkten Th2-Immunantwort. Eine gezielte Induktion protektiver, IFN- γ -produzierender CD8⁺ T-Zellen erscheint schwierig, da in unterschiedlichen Organsystemen unterschiedliche Subpopulationen antigenspezifischer CD8⁺ T-Zellen existieren und die Regulation der Entwicklung der einzelnen Subpopulationen auf molekularer Ebene nicht geklärt ist.

Die gezielte Exposition mit mikrobiellen Antigenen durch Impfungen gegen Influenza oder DTP oder durch die Exposition mit LPS führten in den vorgestellten Arbeiten dagegen zur deutlichen Suppression der allergeninduzierten Th2-Immunantwort und zu einem Wechsel von einer überwiegenden Th2-Immunantwort hin zu einer überwiegenden unspezifischen

Th1-Immunantwort als wahrscheinlichsten Mechanismus der Suppression der Th2-abhängigen Entzündungsreaktionen.

Der Zeitpunkt des ersten Allergenkontakts und damit der erstmögliche Zeitpunkt einer allergischen Sensibilisierung sind nicht bekannt, der Zeitpunkt, an dem eine Immunmodulation eingeleitet wird, erscheint jedoch maßgeblich für ihre protektive Wirksamkeit. Wie die vorliegenden Daten zeigen, kann eine Th1-Induktion nach bereits erfolgter Sensibilisierung diese nicht mehr rückgängig machen. Die lokale Exposition mit LPS nach Sensibilisierung, aber vor inhalativer Allergenprovokation in dem vorliegenden LPS-Model führte IL-12-abhängig zur Suppression der Atemwegsentszündung, nicht jedoch zur Inhibition der Atemwegshyperreaktivität, und lokal, nicht jedoch systemisch zu einer Th1-Immunantwort. Es ist nun lange bekannt, dass Th1-Zellen eine Th2-bedingte Atemwegshyperreaktivität verstärken können (Hansen 1999, Randolph 1999). Die Exposition mit LPS bei einem bestehenden Asthma bronchiale führt ebenfalls bekanntermaßen bei Mensch und Tier durch Induktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α und durch die konsekutiv ausgelöste neutrophile Entzündungsreaktion zur deutlichen Exazerbation der Erkrankung (Michel 1996). Damit erscheint die Induktion einer Th1-Immunantwort nach bereits erfolgter Sensibilisierung trotz des partiell therapeutischen LPS-Effektes nur sehr eingeschränkt anwendbar.

Angenommen wird, dass die allergische Sensibilisierung für einige Allergene, wie den Nahrungsmittelallergenen bereits in sehr früher Kindheit, möglicherweise auch schon pränatal, stattfindet. Ein pränatal möglicher Allergentransfer als Voraussetzung für die Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung wurde bereits nachgewiesen (Loibichler 2002). Dementsprechend könnte auch der optimale Zeitpunkt einer präventiven Immunmodulation bereits pränatal liegen. Der mögliche spezifische Effekt einer pränatalen Immunmodulation könnte durch die Plastizität des Immunsystems und durch Interaktionen zwischen dem angeborenen, unspezifischen und adaptiven, spezifischen Immunsystem in der sensiblen, frühen Entwicklungsphase des Immunsystems während der Fetalzeit und der frühen Neonatalzeit begründet sein.

Die Plazentabarriere ist während der Gestationszeit zur Vermeidung einer akuten Abstoßung des Feten, der immunologisch als Allograft fungiert, durch ein Th2-gerichtetes Zytokinmilieu charakterisiert (Chaouat 2004). In der ersten postnatalen Lebensperiode ist das adaptive Immunsystem ebenfalls vornehmlich Th2-gerichtet, so dass allergische Immunantworten begünstigt werden (Adkins 1998, Adkins 2001). Eine bereits pränatal beginnende Exposition mit Th1-induzierenden mikrobiellen Antigenen könnte dagegen in einer sehr sensiblen Phase, in der das sich entwickelnde adaptive Immunsystem durch Wechselwirkungen mit dem angeborenem Immunsystem wesentlich geprägt werden kann, wirken. Dadurch könnte eine immunologische Balance erreicht und die Entwicklung Th1-gerichteter Zellen sowie vor allem regulatorischer T-Zellen induziert werden, die ein dauerhaftes Übergewicht einer Th2-Immunantwort verhindern (Zuany-Amorim 2002). Das in den vorliegenden Arbeiten zur Immunmodulation eingesetzte LPS ist unter anderen mikrobiellen Komponenten ein Kandidat für diese frühe Immunstimulation, da es über die Aktivierung von TLR-4 NF- κ B aktiviert und so proinflammatorische Zytokine wie IL-12 als Gegenspieler zur Th2-Immunantwort induziert (Takeuchi 2001). Die sich entwickelnde TLR-4-Expression während der Fetalzeit und die dadurch bedingte zunehmende Suszeptibilität der Plazentabarriere und des Fetus für LPSs prädisponieren für eine effektive Induktion des Th1-gerichteten Zytokinmilieus im Fetus (Gayle 2004). Die gleichzeitige Entwicklung und mögliche Induktion der Rezeptoren mikrobieller Antigene durch diese Antigene selbst, wie hier anhand der induzierten LPS-Rezeptoren durch die pränatale LPS-Exposition in der Maus gezeigt, könnte also zusätzlich für eine zunehmende Ansprechbarkeit der Nachkommen gegenüber den entsprechenden mikrobiellen Antigenen einerseits und möglicherweise für eine verminderte Suszeptibilität gegenüber einer allergischen Sensibilisierung andererseits sorgen.

Neben dem Zeitpunkt erscheint vor allem für die potentielle Immunmodulation mit LPS die Dosis, Dauer und Frequenz der Exposition eine entscheidende Rolle. Hohe Expositionsdosen induzieren eine Th1-Immunantwort und neutrophile Inflammation, geringe Dosen lösen dagegen eine Th2-Immunantwort aus und können eine allergische Entzündung verstärken. Der mögliche protektive LPS-Effekt auf allergische Erkrankungen geht wahrscheinlich auf eine kontinuierliche Exposition mit einer relativ hohen Dosis, beginnend in einem frühen Lebensalter, also noch vor Beginn der ersten allergischen Sensibilisierung und Manifestation

einer allergischen Erkrankung, zurück. Die Dosisangaben sind relativ und Schwellendosen für die jeweilige Immunantwort bisher nicht quantifiziert (Liu 2003).

Die Induktion einer Th1-Immunantwort zur Prävention allergischer Erkrankungen könnte die Entwicklung Th1-vermittelter Autoimmunerkrankungen, zu denen der Typ-1-Diabetes, die Autoimmunthyreoiditis oder Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis gehören, begünstigen. Entscheidend für die Entstehung der autoimmunen Entzündung ist jedoch die Produktion von IL-17 durch Th-17-Zellen. Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass Th-17-Zellen nicht aus Vorläufer-Th1-Zellen entstehen, wie zuvor angenommen, sondern neben Th1- und Th2-Effektorzellen eine dritte Th-Population darstellen. Ihre Entwicklung wird direkt durch IL-23 induziert, das von DCs produziert wird, und sowohl durch IL-4 als auch durch IFN- γ inhibiert. Damit wirken beide Zytokine, IL-4 und IFN- γ , präventiv gegenüber den ebenfalls zunehmend häufiger auftretenden Autoimmunerkrankungen (Harrington 2006, Park 2006).

Die vorliegenden tierexperimentellen Daten zeigen, dass, gemäß der Dichotomie des Immunsystems, die Exposition mit mikrobiellen Antigenen die allergenbedingte Th2-Immunantwort supprimieren und die Entwicklung der allergischen Entzündung verhindern kann. Die Stimulation des angeborenen, unspezifischen Immunsystems führt darüberhinaus zur Induktion einer unspezifischen Th1-Immunantwort, die die Sensibilisierung gegen eine Vielzahl von Allergenen verhindern könnte.

3.4 Immunmodulation durch Toleranzinduktion

Akdis et al. beschrieben 2004 erstmals, dass Tregs bei atopischen Erkrankungen vermindert vorzufinden sind (Akdis 2004). Darauf basierend entwickelte sich die Hypothese der Imbalance zwischen Th2- (und Th1-)Zellen einerseits und Tregs andererseits als wesentliche Ursache für die Entwicklung atopischer Erkrankungen; entsprechend wurde in der Induktion von aTregs ein möglicher Ansatzpunkt für immunmodulatorische Präventionskonzepte gesehen.

Darm, Atemwege und die Haut stellen die hauptsächlichen Eintrittspforten für Fremdantigene dar. Insbesondere das mukosale Immunsystem des Darms und der Atemwege spielt somit bei der Entwicklung der Immuntoleranz als physiologische Reaktion auf normalerweise harmlose Umweltantigene eine zentrale Rolle. Mit der Besiedlung des Darms in den ersten Lebensmonaten stellt die Darmflora den ersten und wichtigsten Stimulus für die Entwicklung des darmassoziierten Immunsystems, des weitaus größten organassoziierten Immunsystems, dar. Wechselwirkungen zwischen der unspezifischen Stimulation des sich entwickelnden angeborenen Immunsystems durch die Darmbakterien und der gleichzeitigen Exposition mit harmlosen Fremdantigenen könnten dementsprechend die antigenspezifische Toleranzentwicklung durch das adaptive Immunsystem entscheidend beeinflussen.

Für diese Hypothese sprechen eine Reihe retrospektiver, epidemiologischer Studien, die zeigten, dass Kinder, die auf einem Bauernhof im engen Kontakt zu Stalltieren aufwachsen, seltener allergische Erkrankungen entwickeln. Die hohen Allergenkonzentrationen und gleichzeitig vorhandenen mikrobiellen Bestandteile der organischen Stäube werden hier für den immunmodulatorisch protektiven Effekt auf die Entwicklung einer allergischen Sensibilisierung verantwortlich gemacht. Während die Allergenvermeidung bei bereits bestehender Sensibilisierung sekundär präventiv auf spätere Symptome wirkt (Lau 2000), erscheint sie also nicht als Mittel der Wahl zur primären Prävention allergischer Erkrankungen. So wurde die frühe Allergenexposition mit einer geringeren Prävalenz der allergischen Rhinitis und des allergischen Asthma bronchiale assoziiert gefunden (Hesselmar 1999).

Allergen, über die Atemwege appliziert, aktiviert pDCs, die die Differenzierung regulatorischer T-Zellen und eine allergenspezifische mukosale Toleranz in der Maus hervorrufen (Umetsu 2006). Bei der subcutanen oder sublingualen allergenspezifischen Immuntherapie entwickeln sich nach subkutaner Applikation ansteigender Allergendosen über einen Zeitraum von drei bis fünf Jahren Foxp3^+ aTregs, die über ihre Zytokine IL-10 oder TGF- β und Oberflächenmoleküle wie cytotoxic T-lymphocyte antigen (CTLA)4 und programmed death (PD)-1 immunsuppressiv und antiinflammatorisch wirken und eine

lebenslange Toleranz induzieren können (ausführlich zusammengefasst in (Umetsu 2006)). In unserem Mausmodell für die allergische Sensibilisierung und Atemwegsentzündung führte die repetitive Allergenexposition über die Atemwege in den nachfolgend allergensensibilisierten Jungtieren zur Suppression der allergeninduzierten IgE-Produktion, der Atemwegsinfektion und Atemwegshyperreaktivität, assoziiert mit einer supprimierten allergenspezifischen T-Zellantwort *in vitro* als Zeichen der Induktion einer allergenspezifischen mukosalen Toleranz. Wang et al. zeigten in einem ähnlichen Modell die Entwicklung toleranzinduzierender Tregs nach repetitiver Gabe von LPS und Ovalbumin in der Neonatalzeit und späterer Sensibilisierung (Wang 2006).

Tregs vermitteln durch die Zytokine IL-10 und tumor growth factor (TGF)- β , die hemmend auf die T-Zellproliferation und damit immunsuppressiv wirken (Wakkach 2001, Chen 2003), eine allergenspezifische Toleranz und inhibieren die Entwicklung einer allergischen Atemwegsentzündung und -hyperreaktivität (Stampfli 1999, Hansen 2000) in der Maus. Die gezielte Induktion von aTregs durch eine repetitive Allergenexposition, wie es bisher sekundär präventiv im Rahmen der spezifischen subcutanen oder sublingualen Immuntherapie erfolgt, könnte also eine allergenspezifische Toleranz induzieren und so auch primär präventiv gegen die Sensibilisierung mit einem spezifischen Allergen schützen. Die Auswahl des Allergens wäre allerdings sehr schwierig.

Die Entwicklung von aTregs zur Induktion einer antigenspezifischen Toleranz gelang im Tierexperiment: In der Maus induzierten gleichzeitig mit einem Allergen applizierte hitzeinaktivierte *Listeria monocytogenes* als Adjuvans reife CD8⁺ pDCs, die IL-10 und IL-12 produzierten und so die Entwicklung IL-10- und IFN- γ -produzierender aTregs hervorriefen. Diese Th1-ähnlichen aTregs exprimierten Foxp3 und T-bet und verhinderten die Entwicklung einer allergeninduzierten Atemwegshyperreaktivität in der Maus (Stock 2004). Vermutlich auf ähnliche Weise führte in der vorliegenden Arbeit die repetitive Exposition mit LPS über die Atemwege in Kombination mit der allergenspezifischen mukosalen Toleranzinduktion zur Induktion einer unspezifischen Th1-Immunantwort. Möglicherweise wurde die immunmodulatorische LPS- und Allergenwirkung durch CD4⁺ T-Zellen vermittelt, die in erhöhter Frequenz gefunden wurden und IL-10 und IFN- γ produzieren.

Gleichzeitig mit einem Allergen applizierte Th1-induzierende Adjuvantien, wie das LPS, könnten nun die Suszeptibilität eines Organismus insgesamt vermindern, eine allergische Erkrankung zu entwickeln, und somit der Sensibilisierung mit einer Vielzahl von Allergenen entgegenwirken.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Als „Epidemie des 21. Jahrhunderts“ und erhebliches Gesundheitsproblem der westlichen Industrienationen erfordern Erkrankungen des atopischen Formenkreises die Entwicklung innovativer Konzepte zur primären Prävention. Infolge der Fortschritte in der Aufklärung der genetischen und molekularen Mechanismen der allergischen Sensibilisierung werden immunmodulatorische Verfahren, die auf der Induktion natürlicher immunregulatorischer Mechanismen beruhen, zur primären Prävention allergischer Erkrankungen angestrebt. Gemeinsames Ziel dieser Konzepte ist, die Balance in der adaptiven Immunantwort gegen Allergene wieder herzustellen, um so ausschließlich symptomatische, sehr häufig unspezifische und entsprechend nebenwirkungsreiche Therapien durch spezifische, kurative Maßnahmen abzulösen.

Die natürliche Exposition mit mikrobiellen Antigenen hat ebenso wie die Auseinandersetzung des Organismus mit bestimmten Infektionskrankheiten wahrscheinlich wesentlichen Anteil an der normalen Entwicklung des Immunsystems und damit auch an der Balance innerhalb des adaptiven Immunsystems zwischen der allergeninduzierten Th2-Immunantwort auf der einen und der Th1-Immunantwort bzw. regulatorischen T-Zellantwort auf der anderen Seite.

Die vorliegenden Untersuchungen konnten in einem Mausmodell für die allergische Sensibilisierung und Atemwegsentzündung zeigen, dass die Exposition mit mikrobiellen Antigenen wie Influenzaviren, Diphtherie, Tetanus und Pertussis sowie LPSs die Entwicklung einer späteren allergischen Sensibilisierung und Atemwegsentzündung verhinderte, assoziiert mit der Suppression der allergenspezifischen Th2-Immunantwort *in vitro*. Die Stimulation des angeborenen Immunsystems mit diesen mikrobiellen Agentien vor Beginn einer Allergensensibilisierung führte zudem zur Entwicklung einer unspezifischen systemischen Th1-immunantwort, die die Suszeptibilität eines Organismus gegenüber der allergischen Sensibilisierung verringern und so die spätere Sensibilisierung gegen viele verschiedene Allergen verhindern könnte.

Die repetitive Exposition mit einem Allergen über die Atemwege verhinderte durch Induktion einer mukosalen Toleranz die Entwicklung einer späteren allergischen Sensibilisierung und Atemwegsentzündung. Die gleichzeitige Exposition mit LPS über die Atemwege induzierte wiederum eine unspezifische Th1-Immunantwort, die mit einer verringerten Suszeptibilität für die Sensibilisierung gegen eine Vielzahl von Allergenen einhergehen könnte.

Der Zeitpunkt des ersten Allergenkontaktes und damit der ersten Möglichkeit der allergischen Sensibilisierung sind derzeit noch nicht bekannt. Die pränatal beginnende Stimulation des angeborenen Immunsystems, wie in den vorliegenden Arbeiten mit LPS, erschien günstig, da die Entwicklung der Rezeptoren des angeborenen Immunsystems, hier der LPS-Rezeptoren, zusätzlich induziert und so die Ansprechbarkeit des Organismus gegenüber LPS während der Entwicklung des Immunsystems erhöht wurde.

Auf der Basis dieser tierexperimentellen Daten, die einen protektiven Effekt für die Stimulation insbesondere des sich entwickelnden Immunsystems mit mikrobiellen Antigenen gegen eine spätere allergische Sensibilisierung zeigten, wird derzeit an unserer Klinik im Rahmen einer prospektiven, doppelblind, mit Placebo kontrollierten Interventionsstudie bei Säuglingen mit atopisch vorbelasteten Eltern der mögliche präventive Effekt eines zwischen dem ersten und siebten Lebensmonat oral verabreichten Bakterienlysats aus apathogenen *Escherichia coli*- und *Enterococcus faecalis*-Stämmen auf die Entwicklung einer atopischen Dermatitis untersucht.

5. Literatur

Aalberse RC, van Ree R, Dannemann A, Wahn U. IgE antibodies to tetanus toxoid in relation to atopy. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 169–171.

Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, Greenfield EA, Chang TT, Sharpe AH, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-Ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nature Medicine* 2002; 8: 1024-1032.

Akdis M, Verhagen J, Taylor A, Karamloo F, Karagiannidis C, Cramer R, Thunberg S, Deniz G, Valenta R, Fiebig H, Kegel C, Disch R, Schmidt-Weber CB, Blaser K, Akdis CA. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med* 2004; 199, 1567-1575.

Adkins B, Du RQ. Newborn mice develop balanced Th1/Th2 primary effector responses in vivo but are biased to Th2 secondary responses. *J Immunol* 1998; 160: 4217-4224.

Adkins B, Bu Y, Guevara P. The generation of Th memory in neonates versus adults: prolonged primary Th2 effector function and impaired development of Th1 memory effector function in murine neonates. *J Immunol* 2001; 166: 918-925.

Allanore Y, Hilliquin P, Coste J, Renoux M, Menkes CJ. Decreased prevalence of atopy in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1998; 351: 497.

Allergic factors associated with the development of asthma and the influence of cetirizine in a double-blind, randomised, placebocontrolled trial: first results of ETAC. Early treatment of the atopic child. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9: 116–124.

Benn CS, Bendixen M, Krause TG, Olesen AB. Questionable coexistence of T(H)1- and T(H)2-related diseases *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 328-329.

Bayram H, Devalia JL, Khair OA, Abdelaziz MM, Sapsford RJ, Czarlewski W, Campbell AM, Bousquet J, Davies RJ. Effect of loratadine on nitrogen dioxide-induced changes in electrical

resistance and release of inflammatory mediators from cultured human bronchial epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 93–99.

Becker KG, Simon RM, Bailey-Wilson JE, Freidlin B, Biddison WE, McFarland HF, Trent JM. Clustering of non-major histocompatibility complex susceptibility candidate loci in human autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9979-9984.

Berth-Jones J, Finlay AY, Zaki I, Tan B, Goodyear H, Lewis-Jones S, Cork MJ, Bleehen SS, Salek MS, Allen BR, Smith S, Graham-Brown RA. Cyclosporine in severe childhood dermatitis: A multicenter study. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 1016–1021.

Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L, Neu U, Sennhauser FH, Varonier HS, Vuille JC, Wuthrich B. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 28-34.

Bunikowski R, Staab D, Renz H, Kussebi F, Bräutigam M, Weidinger G, Wahn U. Low dose cyclosporin A microemulsion in children with severe atopic dermatitis: Clinical and immunological effects. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 10: 1–10.

Burney PGJ, Chinn S, Rona RJ. Has the prevalence of asthma increased in children? Evidence from the National study of Health and Growth 1973 - 1986. *BMJ* 1990; 300: 1306-1310.

Bustos GJ, Bustos D, Romero O. Prevention of asthma with ketotifen in preasthmatic children: a three-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 568–573.

Caron G, Delneste Y, Roelandts E, Duez C, Bonnefoy JY, Pestel J, Jeannin P. Histamine polarizes human dendritic cells into Th2 cell-promoting effector dendritic cells. *J Immunol* 2001; 167: 3682–3686 (1).

Caron G, Delneste Y, Roelandts E et al. Histamine induces CD86 expression and chemokine production by human immature dendritic cells. *J Immunol* 2001; 166: 6000–6006 (2).

Cembrzynska-Nowak M, Szklarz E, Inglot AD, Teodorczyk-Injeyan JA. Elevated release of tumor necrosis factor- α and interferon- γ by bronchoalveolar leukocytes from patients with bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 291–295.

Chaouat G, Ledee-Bataille N, Dubanchet S, Zourbas S, Sandra O, Martal J. TH1/TH2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/ early abortion: reexamining the TH1/TH2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 93-119.

Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM. Conversion of Peripheral CD4+CD25- Naive T Cells to CD4+CD25+ Regulatory T Cells by TGF- β Induction of Transcription Factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198: 1875-1886.

Coffman RL. Origins of the TH1-TH2 model: a personal perspective. *Nat Immunol* 2006; 7: 539-541.

Cookson W. The alliance of genes and environment in asthma and allergy. *Nature* 1999; 402(suppl): B5-11.

Dannemann A, van Ree R, Kulig M, Bergmann RL, Bauer P, Forster J, Guggenmoos-Holzmann I, Aalberse RC, Wahn U. Specific IgE and IgG4 immune responses to tetanus and diphtheria toxoid in atopic and nonatopic children during the first two years of life. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 111: 262–267.

DeStefano F, Gu D, Kramarz P, Truman BI, Iademarco MF, Mullooly JP, Jackson LA, Davis RL, Black SB, Shinefield HR, Marcy SM, Ward JI, Chen RT; Vaccine Safety Datalink Research Group. Childhood vaccinations and risk of asthma. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 498–504.

Dhodapkar, MV, Steinman RM, Krasovsky J, Munz C, Bhardwaj N. Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J Exp Med* 2001; 193: 233-238.

Dumoutier L, Louahed J, Renauld JC. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000; 164: 1814-1819.

Elenkov IJ, Webster E, Papanicolaou DA, Fleisher TA, Chrousos GP, Wilder RL. Histamine potently suppresses human IL-12 and stimulates IL-10 production via H2 receptors. *J Immunol* 1998; 161: 2586–2593.

Erb KJ, Holloway JW, Soback A, Moll H, Le Gros G. Infection of mice with *Mycobacterium bovis*-Bacillus Calmette-Guerin (BCG) suppresses allergen-induced airway eosinophilia. *J Exp Med* 1998; 187: 561-569.

Galli SJ. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med* 1993; 328: 257–265.

Gayle DA, Beloosesky R, Desai M, Amidi F, Nunez SE, Ross MG. Maternal LPS induces cytokines in the amniotic fluid and corticotrophin releasing hormone in the fetal rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R1024-1029.

Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, Streib JE, Price MR, Klinnert MD, Liu AH. Relation between house dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. *Lancet* 2000; 355: 1680-1683.

Gergen PJ, Weiss KB. The increasing problem of asthma in the United States. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 823-824.

Gilliet M, Liu YJ. Human plasmacytoid-derived dendritic cells and the induction of T-regulatory cells. *Hum Immunol* 2002. 63 : 1149-1155.

Grüber C, Lau S, Dannemann A, Sommerfeld C, Wahn U, Aalberse R. Downregulation of IgE and IgG4 antibodies to tetanus toxoid and diphtheria toxoid by covaccination with cellular *Bordetella pertussis* vaccine. *J Immunology* 2001; 167: 2411–2417.

Grüber C, Illi S, Lau S, Nickel R, Forster J, Kamin W, Bauer CP, Wahn V, Wahn U; MAS-90 Study Group. Transient suppression of atopy in early childhood is associated with high vaccination coverage. *Pediatrics* 2003; 111: e282–e288.

Hamelmann E, Oshiba A, Paluh J, Bradley K, Loader J, Potter TA, Larsen GL, Gelfand EW. Requirement for CD8+ T cells in the development of airway hyperresponsiveness in a murine model of airway sensitization. *J Exp Med* 1996; 183: 1719–1729.

Hamelmann E, Cieslewicz G, Schwarze J, Ishizuka T, Joetham A, Heusser C, Gelfand EW. Anti-interleukin 5 but not anti-IgE prevents airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 934-941.

Hansen G, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *Clin Invest* 1999; 103: 175–183.

Hansen G, McIntire JJ, Yeung VP, Berry G, Thorbecke GJ, Chen L, DeKruyff RH, Umetsu DT. CD4+ Th Cells Engineered To Produce Latent TGF- β 1 Reverse Allergen-Induced Airway Hyperreactivity and Inflammation. *J Clin Invest* 2000; 111: 89-96.

Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1023-1032.

Heinzmann A, Mao XQ, Akaiwa M, Kreomer RT, Gao PS, Ohshima K, Umeshita R, Abe Y, Braun S, Yamashita T, Roberts MH, Sugimoto R, Arima K, Arinobu Y, Yu B, Kruse S, Enomoto T, Dake Y, Kawai M, Shimazu S, Sasaki S, Adra CN, Kitaichi M, Inoue H, Yamauchi K, Tomichi N, Kurimoto F, Hamasaki N, Hopkin JM, Izuhara K, Shirakawa T, Deichmann KA. Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 549-559.

Hesselmar B, Aberg N, Aberg B, Eriksson B, Bjorksten B. Does early exposure to cat or dog protect against later allergy development? *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 611-7.

Herz U, Gerhold K, Grüber C, Braun A, Wahn U, Renz H, Paul K. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 14: 867-874.

Hill SJ. Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptor. *Pharmacol Rev* 1990; 42: 45–83.

Hilliquin P, Allanore Y, Coste J, Renoux M, Kahan A, Menkes CJ. Reduced incidence and prevalence of atopy in rheumatoid arthritis. Results of a case-control study. *Rheumatology* 2000; 39: 1020-1026.

Hofstra CL, Van Ark I, Hofman G, Kool M, Nijkamp FP, Van Oosterhout AJ. Prevention of Th2-like cell responses by coadministration of IL-12 and IL-18 is associated with inhibition of antigen-induced airway hyperresponsiveness, eosinophilia, and serum IgE levels. *J Immunol* 1998; 161: 5054–5060.

Hoshino A, Tsuji T, Matsuzaki J, Jinushi T, Ashino S, Teramura T, Chamoto K, Tanaka Y, Asakura Y, Sakurai T, Mita Y, Takaoka A, Nakaike S, Takeshima T, Ikeda H, Nishimura T. STAT6-mediated signaling in Th2-dependent allergic asthma: critical role for the development of eosinophilia, airway hyper-responsiveness and mucus hypersecretion, distinct from its role in Th2 differentiation. *Int Immunol* 2004; 16: 1497-1505.

Hsu CH, Chua KY, Tao MH, Lai YL, Wu HD, Huang SK, Hsieh KH. Immunoprophylaxis of allergen-induced immunoglobulin E synthesis and airway hyperresponsiveness *in vivo* by genetic immunization. *Nat medicine* 1996; 2: 540-544.

Hurwitz EL, Morgenstern H. Effects of diphtheria-tetanus-pertussis or tetanus vaccination on allergies and allergy related respiratory symptoms among children and adolescents in the United States. *J Manipulative Physiol Ther* 2000; 23: 81–90.

Ilikura Y, Naspitz CK, Mikawa H, Talaricoficho S, Baba M, Sole D, Nishima S. Prevention of asthma by ketotifen in infants with atopic dermatitis. *Ann Allergy* 1992; 68: 233–236.

Illi S, von Mutius E, Lau S, Bergmann R, Niggemann B, Sommerfeld C, Wahn U; MAS Group. Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study. *BMJ* 2001; 322: 390-395.

Isolauri E, Huurr A, Salminen S, Impivaara O. The allergy epidemic extends beyond the past few decades. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1007-1010.

Ito T, Wang YH, Duramad O, Hori T, Delespesse GJ, Watanabe N, Qin FX, Yao Z, Cao W, Liu YJ. TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand. *J Exp Med* 2005; 202: 1213-1223.

Jutel M, Klunker S, Akdis M, Małolepszy J, Thomet OA, Zak-Nejmark T, Blaser K, Akdis CA. Histamine upregulates Th1 and downregulates Th2 responses due to different patterns of surface histamine 1 and 2 receptor expression. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 124: 190–192.

Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, Fritzsich C, Weiland SK, von Mutius E. IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 269-74.

Kaisho T, Akira S. Toll like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 979-987.

Kemp T, Pearce N, Fitzharris P, Crane J, Fergusson D, St George I, Wickens K, Beasley R. Is infant immunization a risk factor for childhood asthma or allergy? *Epidemiology* 1997; 8: 678–680.

Kero J, Gissler M, Hemminki E, Isolauri E. Could TH1 and TH2 diseases coexist? Evaluation of asthma incidence in children with coeliac disease, type 1 diabetes, or rheumatoid arthritis: a register study. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 781-783.

Kips JC, Brusselle GJ, Joos GF, Peleman RA, Tavernier JH, Devos RR, Pauwels RA. Interleukin-12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 535-539.

Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989; 74: 1–10.

Kodama T, Matsuyama T, Kuribayashi K, Nishioka Y, Sugita M, Akira S, Nakanishi K, Okamura H. IL-18 deficiency selectively enhances allergen-induced eosinophilia in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105(Pt 1): 45–53.

Kumano K, Nakao A, Nakajima H, Hayashi F, Kurimoto M, Okamura H, Saito Y, Iwamoto I. Interleukin-18 enhances antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 873–878.

Kurukulaaratchy RJ, Matthews S, Holgate ST, Arshad SH. Predicting persistent disease among children who wheeze during early life. *Eur Respir J* 2003; 22: 767-771.

Lack G, Bradley KL, Hamelmann E, Renz H, Loader J, Leung DY, Larsen G, Gelfand EW. Nebulized IFN-gamma inhibits the development of secondary allergic responses in mice. *J Immunol* 1996; 157: 1432-1439.

Lagier B, Lebel B, Bousquet J, Pene J. Different modulation by histamine of IL-4 and interferon-gamma (IFN-g) release according to the phenotype of human Th0, Th1 and Th2 clones. *Clin Exp Immunol* 1997; 108: 545–551.

Lau S, Illi S, Sommerfeld C, Niggemann B, Bergmann R, von Mutius E, Wahn U. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. *Lancet* 2000; 356: 1392-1397.

Li B, Samanta A, Song X, Furuuchi K, Iacono KT, Kennedy S, Katsumata M, Saouaf SJ, Greene MI. Foxp3 ensembles in T-cell regulation. *Immunol Reviews* 2006; 212: 99-113.

Lippert UK-KS, Moller A, Kiessling U, Czarnetzki BM. Pharmacological modulation of IL-6 and IL-8 secretion by the H1-antagonist decarboethoxy-loratadine and dexamethasone by human mast and basophilic cell lines. *Exp Dermatol* 1995; 4 (Part 2): 272–276.

Liu AH. Endotoxin exposure in allergy and asthma: reconciling a paradox. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 379-392.

Liu AH, Leung DYM. Renaissance of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1063-1066.

Liu AH, Murphy JR. Hygiene hypothesis: fact or fiction? *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 471-478.

Liu J, Farmer JD, Lane WS, Friedmann J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66: 807–815.

Loibichler C, Pichler J, Gerstmayr M, Bohle B, Kist H, Urbanek R, Szépfalusi Z. Materno-fetal passage of nutritive and inhalant allergens across placentas of term and pre-term deliveries perfused in vitro. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1546-1551.

Maggi E, Del Prete GF, Parronchi P, Tiri A, Macchia D, Biswas P, Simonelli C, Ricci M, Romagnani S. Role of T cells, IL-2 and IL-6 in IL-4 dependent in vitro human IgE synthesis. *Immunology* 1989; 68: 300–306.

Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 733-744.

Marks GB, Mahrshahi S, Kemp AS, Tovey ER, Webb K, Almqvist C, Ampon RD, Crisafulli D, Belousova EG, Mellis CM, Peat JK. Leader for the Childhood Asthma Prevention Study team. Prevention of asthma during the first 5 years of life: A randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 53-61.

Marsland BJ, Harris NL, Camberis M, Kopf M, Hook SM, Le Gros G. Bystander suppression of allergic airway inflammation by lung resident memory CD8⁺ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 6116-6121.

Mazzoni A, Young HA, Spitzer JH, Visintin A, Segal DM. Histamine regulates cytokine production in maturing dendritic cells, resulting in altered T cell polarization. *J Clin Invest* 2001; 108: 1865–1873.

McHugh SM, Wilson AB, Deighton J, Lachmann PJ, Ewan PW. The profiles of interleukin (IL)-2, IL-6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells from house-dust-mite-allergic patients: A role for IL-6 in allergic disease. *Allergy* 1994; 49: 751–759.

McMenamin C, Holt PG. The natural immune response to inhaled soluble protein antigens involves major histocompatibility complex (MHC) class I-restricted CD8⁺ T cell-mediated but MHC class II-restricted CD4⁺ T cell-dependent immune deviation resulting in selective suppression of immunoglobulin E production. *J Exp Med* 1993; 178: 889–899.

Message SD, Johnston SL. Viruses in asthma. *Br Med Bull* 2002; 61: 29-43.

Michel O, Kips J, Duchateau J, Vertongen F, Robert L, Collet H, Pauwels R, Sergysels R. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1641-1646.

Mori A, Suko M, Nishizaki Y, Kaminuma O, Matsuzaki G, Ito K, Etoh T, Nakagawa H, Tsuruoka N, Okudaira H. Regulation of interleukin-5 production by peripheral blood mononuclear cell from atopic patients with FK 506, cyclosporin A and glucocorticoid. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104: 32–35.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357.

Nickel R, Lau S, Niggemann B, Grüber C, von Mutius E, Illi S, Kulig M, Wahn U and the MAS Group. *Pediatr Allergy Immunol* 2002; 13: 7-10.

Neuber K, Hilger RA, König W. Interleukin-3, interleukin-8, fMLP and C5a enhance the release of leukotrienes from neutrophils of patients with atopic dermatitis. *Immunology* 1991; 73: 83–87.

Neuber K, Steinbrücke K, Kowalzik L, Köhler I, Ring J. Cytokine-mediated effects of peripheral blood mononuclear cells from patients with atopic eczema on keratinocytes (HaCaT) in a new coculture system. *Br J Dermatol* 1995;.133:.750–756.

Nilsson L, Grüber C, Granström M, Björkstén B, Kjellmann NIM. Pertussis-IgE and atopic disease. *Allergy* 1998; 53: 1195–1201.

O'Byrne PM. Cytokines or their antagonists for the treatment of asthma. *Chest* 2006; 130: 244-250.

Odent MR, Culpin EE, Kimmel T. Pertussis vaccination and asthma: is there a link? *JAMA* 1994; 272: 592–593.

Ostroukhova M, Seguin-Devaux C, Oriss TB, Dixon-McCarthy B, Yang L, Ameredes BT, Corcoran TE, Ray A. Tolerance induced by inhaled antigen involves CD4(+) T cells expressing membrane-bound TGF-beta and FOXP3. *J Clin Invest* 2004;114: 28-38.

Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; 6: 1133-1141.

Parkin PC, Taylor CY, Petric M, Schuh S, Goldbach M, Ipp M. Controlled study of respiratory viruses and wheezing. *Arch Dis Child* 2002; 87: 221-222.

Randolph DA, Stephens R, Carruthers CJ, Chaplin DD. Cooperation between Th1 and Th2 cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 1999; 104: 1021-1029.

Reed CE, Milton DK. Endotoxin-stimulated innate immunity: a contributing factor for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 157-166.

Renz H, Bradley K, Enssle K, Loader JE, Larsen GL, Gelfand EW. Prevention of the development of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness following in vivo treatment with soluble IL-4 receptor. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 167-176.

Renz H, Lack G, Saloga J, Schwinzer R, Bradley K, Loader J, Kupfer A, Larsen GL, Gelfand EW. Inhibition of IgE production and normalization of airways responsiveness by sensitized CD8 T cells in a mouse model of allergen-induced sensitization. *J Immunol* 1994; 152: 351–360.

Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, Carr D, Schierl R, Nowak D, von Mutius E; ALEX Study Team. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358: 1129-1133.

Rudwaleit M, Andermann B, Alten R, Sorensen H, Listing J, Zink A, Sieper J, Braun J. Atopic disorders in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 968-974.

Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK 506. *Immunol Today* 1992; 13: 136–142.

Sheikh A, Smeeth L, Hubbard R. There is no evidence of an inverse relationship between TH2-mediated atopy and TH1-mediated autoimmune disorders: lack of support for the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 131-135.

Shi H, Qin S, Huang G, Chen Y, Xiao C, Xu H, Liang G, Xie Z, Qin X, Wu J, Li G, Zhang C. Infiltration of eosinophils into the asthmatic airways caused by interleukin 5. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16: 220–224.

Simpson CR, Anderson WJ, Helms PJ, Taylor MW, Watson L, Prescott GJ, Godden DJ, Barker RN. Coincidence of immune-mediated diseases driven by Th1 and Th2 subsets suggests a

common aetiology. A population-based study using computerized general practice data. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 37-42.

Sirois J, Menard G, Moses AS, Bissonnette EY. Importance of histamine in the cytokine network in the lung through H2 and H3 receptors: stimulation of IL-10 production. *J Immunol* 2000; 164: 2964–2970.

Spahn JD, Szeffler SJ. Childhood asthma: new insights into management. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 3-13.

Stampfli MR, Cwiartka M, Gajewska BU, Alvarez D, Ritz SA, Inman MD, Xing Z, Jordana M. Interleukin-10 gene transfer to the airway regulates allergic mucosal sensitization in mice. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1999; 21: 586-596.

Stock P, Akbari O, Berry G, Freeman GJ, DeKruyff RH, Umetsu DT. Induction of T helper type 1-like regulatory cells that express Foxp3 and protect against airway hyperreactivity. *Nat Immunol* 2004; 5: 1149-1156.

Strachan DP. House dust mite allergen avoidance in asthma. Benefits unproved but not yet excluded. *BMJ*. 1998; 317: 1096-1097.

Sur S, Wild JS, Choudhury BK, Sur N, Alam R, Klinman DM. Long term prevention of allergic lung inflammation in a mouse model of asthma by CpG oligodeoxynucleotides. *J Immunol* 1999; 162: 6284-6293.

Takeuchi O, Akira S. Toll-like receptors their physiological role and signal transduction system. *Int Immunopharmacol* 2001; 1: 625-635.

Tremlett HL, Evans J, Wiles CM, Luscombe DK. Asthma and multiple sclerosis: an inverse association in a case-control general practice population. *QJM* 2002; 95: 753-756.

Trujillo C, Erb KJ. Inhibition of allergic disorders by infection with bacteria or the exposure to bacterial products. *Int J Med Microbiology* 2003; 293: 123-131.

Umetsu DT, DeKruyff RH. Th1 and Th2 CD4+ cells in human allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 1-6.

Umetsu DT, DeKruyff RH. The regulation of allergy and asthma. *Immunol Reviews* 2006; 212: 238-55.

Usui T, Preiss JC, Kanno Y, Yao ZJ, Bream JH, O'Shea JJ, Strober W. T-bet regulates Th1 responses through essential effects on GATA-3 function rather than on IFNG gene acetylation and transcription. *JEM* 2006; 203: 755-66.

van Joost T, Kozel MMA, Tank B, Troost R, Prens EP. Cyclosporine in atopic dermatitis. Modulation in the expression of immunological markers in lesional skin. *J Am Acad Dermatol* 1992; 27: 922–928.

Vercelli D, Jabara HH, Arai K, Yokoka T, Geha RS. Endogenous interleukin-6 plays an obligatory role in interleukin 4-dependent human IgE synthesis. *Eur J Immunol* 1989; 19: 1419–1424.

Vignola AM, Crampette L, Mondain M, Sauvère G, Czarlewski W, Bousquet J, Campbell AM. Inhibitory activity of loratadine and descarboethoxyloratadine on expression of ICAM-1 and HLA-DR by nasal epithelial cells. *Allergy* 1995; 50: 200–203.

von Mutius E, Braun-Fahrlander C, Schierl R, Riedler J, Ehlermann S, Maisch S, Waser M, Nowak D. Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1230-1234.

Wakkach A, Cottrez F, Groux H. Differentiation of regulatory T cells 1 is induced by CD2 costimulation. *J Immunol* 2001; 167: 3107-3113.

Wang Y, McCusker C. Neonatal exposure with LPS and/ or allergen prevents experimental allergic airway disease: Development of tolerance using environmental antigens. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 143-151.

Weidinger S, Klopp N, Wagenpfeil S, Rummeler L, Schedel M, Kabesch M, Schafer T, Darsow U, Jakob T, Behrendt H, Wichmann HE, Ring J, Illig T. Association of a STAT 6 haplotype with elevated serum IgE levels in a population based cohort of white adults. *J Med Genet* 2004; 41: 658-663.

Wild JS, Sigounas A, Sur N, Siddiqui, MS, Alam R, Kurimoto M, Sur S. IFN γ -inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J Immunol* 2000; 164: 2701–2710.

White MV, Slater JE, Kaliner MA. Histamine and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 1165–1176.

Wohlleben G, Erb KJ. Inflammation versus immunoregulation: what is the key to the development of an effective antiallergy vaccine? *Pathobiology* 2002–2003; 70: 270–276.

Wohlleben G, Müller J, Tatsch U, Hambrecht C, Herz U, Renz H, Schmitt E, Moll H, Erb KJ. Influenza A virus infection inhibits the efficient recruitment of Th2 cells into the airways and the development of airway eosinophilia. *J Immunol* 2003; 170: 4601-4611.

Yang IA, Fong KM, Holgate ST, Holloway JW. The role of Toll-like receptors and related receptors of the innate immune system in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6: 23-28.

Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, Liggitt HD, Dahl ME, Lewis DB, Gyarmati D, Aye T, Campbell DJ, Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. *Nat Immunol* 2005; 6: 1047-1053.

Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C, Le Moine A, Brunet LR, Kemeny DM, Bowen G, Rook G, Walker C. Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen-specific regulatory T-cells. *Nat Med* 2002; 8: 625-629.

Zurbriggen B, Wüthrich B, Cachelin AB, Wili PB, Kägi MK. Comparison of two formulations of cyclosporin A in the treatment of severe atopic dermatitis. *Dermatology* 1999; 198: 56–60.

6. Abkürzungsverzeichnis

APC	antigenpräsentierende Zelle
aTreg	adaptive regulatorische T-Zelle
CD	cluster of differentiation
CTLA	cytotoxic T-lymphocyte antigen
DC	dendritische Zelle
D	Diphtherie
ELAM	endothelial selectin
Foxp	forkhead box protein
H	Histamin
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.p.	intraperitoneal
IRAK	IL-1 receptor associated kinase
JAK	Januskinase
LBP	LPS-bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
MAMP	microorganism-associated molecular pattern
MAPK	mitogenaktivierte Proteinkinase
mDC	myelozytäre DC
MHC	major histocompatibility complex
OVA	Ovalbumin
P	Pertussis
pDC	plasmazelluläre DC
PBLN	peribronchialer Lymphknoten
PD	programmed death
PPRs	pattern recognition receptors
STAT	signal transducer and activator of transcription

T	Tetanus
T-bet	T-box expressed
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF	tumor growth factor
Th	T-Helfer
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
Treg	regulatorische T-Zelle
TSLP	thymic stromal lymphopietin
VCAM	vascular cell adhesion molecule

7. Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt all denen, die mir während meiner klinischen Ausbildung und meiner Forschungsarbeit und damit auf dem Weg zu meiner Habilitation immer offen und hilfreich zur Seite standen. Zunächst möchte ich Herrn Professor Ulrich Wahn für seine immerwährende Unterstützung, Förderung und Motivation sehr danken, die ich seit der Zeit meiner Promotionsarbeit zu jeder Zeit von ihm erhalten habe.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Eckard Hamelmann, unter dessen Leitung diese Arbeit entstanden ist. Ihm möchte ich sehr für seine außergewöhnliche Unterstützung, sein persönliches Engagement und die vielen leidenschaftlichen Diskussionen danken, die wir geführt haben. Ein Großteil dieser Arbeit hätte nicht ohne die enge Zusammenarbeit mit meinen Kolleginnen und Kollegen seiner Arbeitsgruppe entstehen können. An dieser Stelle möchte ich insbesondere Angela Avagyan und Christine Seib hervorheben und ihnen meinen ganz eigenen Dank für ihre Ausdauer, ihre immerwährende Hilfsbereitschaft und ihre hervorragende Arbeit aussprechen. Für ihre liebe Hilfe möchte ich auch Petra Ellensohn, Margret Oberreit-Menesis, Kerstin Schüler, Gabriele Schulz und Margareta Strozynski danken.

Meinen Eltern und meiner Schwester bin ich besonders innig für ihren immerwährenden Beistand und Fürsorge in all meinen Lebenslagen dankbar. Schließlich bin ich meinem Lebenspartner, Charles Clawson, nicht nur für seine unendliche Geduld bei den englischen Korrekturen der Papiere, sondern auch für seine für mich oft neuen Ansichten und Perspektiven dankbar, die mir so immer wieder neue und wichtige Motivationsmomente gegeben haben.

8.

ERKLÄRUNG

(§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité)

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Kerstin Gerhold