

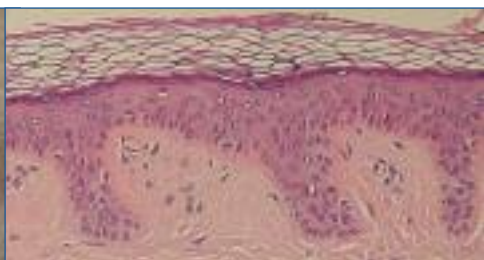
Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung



Abschlussbericht

# Aktive Allergie-Gene

aus der gkf-Info 38 | Juni 2014



## Abschlussbericht

# Aktive Allergie-Gene

*Warum kratzt sich ein Hund nach dem Kontakt mit Hausstaub-Allergenen, während es den anderen überhaupt nicht juckt? Ralf S. Mueller und Paz Schamber untersuchten die Ursachen von allergischen Reaktionen auf der Ebene der Gene. Mit ihren Forschungsergebnissen bestätigen sie einerseits bereits vorhandenes Wissen und andererseits liefern sie neue Ansätze zur weiteren Ursachenforschung und Grundlagen für die Entwicklung neuer Therapien der Umweltallergie beim Hund.*

Man schätzt, dass heute etwa 10 Prozent der Hunde in den Industrieländern unter einer Umweltallergie (Atopie) leiden. Die Zahl der Allergiker, seien es Menschen oder Hunde, ist in den Industrieländern im Vergleich zu den Entwicklungsländern besonders hoch und steigt weiterhin an. Trotz intensiver Forschung weiß man heute noch nicht mit Sicherheit, woran das liegt. Im Verdacht stehen beispielsweise eine höhere Schadstoffbelastung und mangelnder Kontakt zu Bakterien und Parasiten durch die besseren Hygienestandards.

Da die Umweltallergie in bestimmten Rassen und Familien vermehrt auftritt, geht man beim Individuum auch von einer erblichen Veranlagung für die Erkrankung aus. Beim Hund verursachen Umweltallergien meist eine stark juckende Hautentzündung, die canine atopische Dermatitis (CAD). Die Krankheit gilt als unheilbar, die Symptome der Erkrankung können jedoch häufig durch

verschiedene Maßnahmen gelindert werden. Im besten Falle erreicht man mit einer Allergen-spezifischen Immuntherapie die Symptomfreiheit des Hundes. Es gibt aber auch Fälle, in denen mit heutigen Methoden kein befriedigender Therapieerfolg erzielt werden kann. Für diese Fälle soll die Grundlagenforschung Ideen für neue Therapieansätze liefern.

## Haut oder Abwehr – wer reagiert zuerst?

Zur Entstehung des Krankheitsbildes der juckenden Hautentzündung gibt es zwei Hypothesen: Die Inside-Out-Hypothese und die Outside-In-Hypothese.

Die **Inside-Out-Hypothese** besagt, dass die Krankheit mit einer Störung des Immunsystems und einer Überreaktion gegen bestimmte Antigene beginnt. Die damit verbundene Entzündung führt dann in einem zweiten Schritt zu einer Störung der Hautbarriere.

Bei der **Outside-In-Hypothese** geht man hingegen von einer ursprünglichen Störung der Hautbarriere aus. Durch die „undicht“ gewordene Hautbarriere können Allergene vermehrt in die Haut oder Schleimhaut eindringen, was sekundär zur Entzündungsreaktion führt.

Unter der Hautbarriere versteht man die oberste Hautschicht aus miteinander vernetzten verhornten Hautzellen, zwischen denen besondere Fette liegen. Diese Schicht

wirkt wie eine Barriere gegenüber der Außenwelt. Die Hautbarriere schützt den Körper einerseits vor dem Eindringen von Schadstoffen und Krankheitserregern und andererseits vor übermäßigem Feuchtigkeitsverlust. Beim Menschen wurden sowohl für die Inside-Out- als auch die Outside-In-Hypothese Belege gefunden.

## Vom Plan zur Umsetzung

Welche Hypothese nun bei atopischen Hunden zutreffen könnte, haben Mueller und Schmidt mithilfe von Genexpressionsanalysen untersucht. Stark vereinfacht ausgedrückt, erfährt man bei einer Genexpressionsanalyse, was Zellen gerade tatsächlich tun.

In allen Zellen eines Individuums wird der identische erbliche „Bau- und Aktionsplan“ in Form der DNA des Organismus archiviert. Die DNA enthält immer alle Gene des Individuums und somit alle Erbanlagen. Was die verschiedenen Zellen eines Individuums unterscheidet, ist also nicht die DNA, sondern wie der in ihr codierte Plan abgelesen und umgesetzt wird. Diese Ablesung und Umsetzung des „Erbplans“ nennt man Genexpression.

Nur mit der unterschiedlichen Genexpression ist es zu erklären, dass aus einer einzigen befruchteten Eizelle mit einem einzigen Bauplan des Lebens, unterschiedliche Zellen wie Leber- und Hautzellen, Blut- und Knochenzellen, Nieren- und Nervenzellen entstehen können. Konkret funktioniert die Genexpression, indem bestimmte Gene in der Zelle an- oder abgeschaltet werden. Nur die angeschalteten Gene werden exprimiert, d.h. abgelesen und umgesetzt. Ein Beispiel: Es gibt zwar in allen Zellen

„Verhornungsgene“, doch nur in den Hautzellen werden diese angeschaltet und umgesetzt. Die Leber bleibt hingegen – glücklicherweise – unverhornt.

Auch äußere Einflüsse können Gene ein- und ausschalten. Wenn beispielsweise Krankheitserreger in den Organismus eindringen, werden Gene in den Abwehrzellen eingeschaltet, die bestimmte Botenstoffe zur Warnung vor den Eindringlingen produzieren. Diese Eigenschaft macht man sich in der Genexpressionsanalyse zunutze. Um zu erfahren, welche Gene für die Bildung der Botenstoffe verantwortlich sind, versucht man herausfinden, welche Gene durch die Eindringlinge aktiviert wurden. Man kann aber auch umgekehrt über die aktivierten Gene herausfinden, welche Botenstoffe die Zellen gegen diesen Eindringling bilden. Letzteres setzt jedoch voraus, dass die in Frage kommenden Gene bereits bekannt sind.

## Allergische und nicht-allergische Beagles im Vergleich

Für die Studie kamen je sechs Beagles mit einer Allergie gegen Hausstaubmilben und sechs nicht-allergische Beagles zum Einsatz. Bei allen zwölf Tieren wurde je ein kleines Hautareal mit einer Kochsalzlösung und mit Hausstauballergen behandelt. Von diesen Stellen entnahm man nach sechs und nach 24 Stunden Proben. Darüber hinaus wurde auch je eine Probe unbehauelter Haut entnommen. Die Proben der unbehauelten bzw. mit Kochsalzlösung behandelten Haut werden im Folgenden auch unter dem Begriff Negativkontrolle zusammengefasst.

Probenüberblick			
Hunde	unbehandelte Haut (Negativkontrolle)	Kochsalzlösung (Negativkontrolle)	Hausstauballergen
sechs allergische Beagles	je 1 Probe	je 1 Probe nach 6 und nach 24 Stunden	je 1 Probe nach 6 und nach 24 Stunden
sechs nicht-allergische Beagles	je 1 Probe	je 1 Probe nach 6 und nach 24 Stunden	je 1 Probe nach 6 und nach 24 Stunden

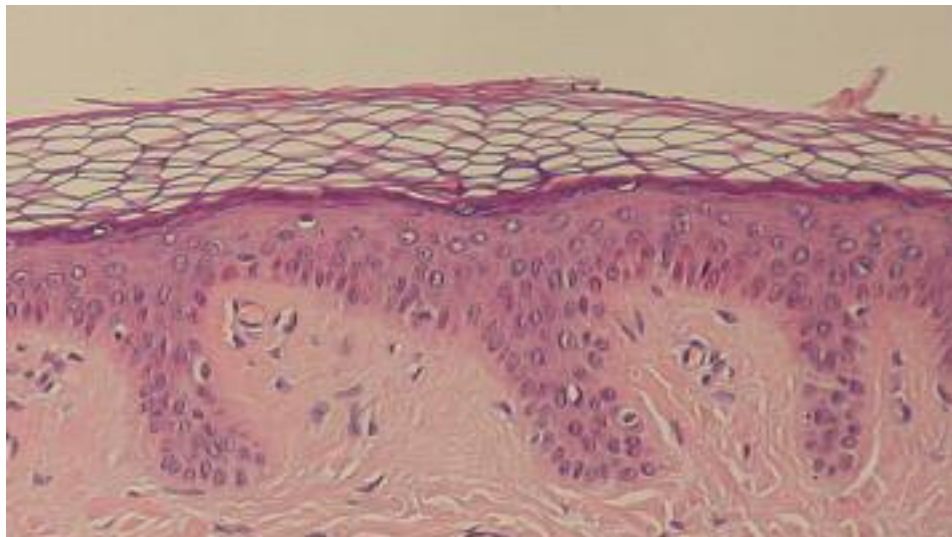


Entnahme einer Hautprobe beim Beagle im Rahmen der Studie. © Mueller

## Ein Überblick über die wichtigsten Unterschiede bei der Genaktivität

Gruppe der Chemokine ➤	Botenstoffe, die Immunzellen veranlassen in ein bestimmtes Hautareal einzuwandern.
Interleukin 33 (IL-33) ➤	wird bei einer Entzündung von vielen Zellen gebildet.
Interleukin 13 (IL-13) ➤	spielt eine wichtige Rolle bei der Produktion von IgE Antikörpern, die bei einer Allergie vermehrt gebildet werden.
Tumornekrosefaktoren ➤	fördern die Vermehrung von Immunzellen, darunter auch spezielle Abwehrzellen der Haut (sogenannte dendritischen Zellen)
Rezeptoren für Immunglobulin G (IgG) ➤	Unter der Bezeichnung IgG wird eine Klasse von Abwehrstoffen zusammengefasst. Rezeptoren sind Andockstellen für jeweils bestimmte Wirkstoffe auf der Zelle. Über das Andocken entfaltet sich die Wirkung des jeweiligen Wirkstoffes.
Chitinasen ➤	sind an der Regulierung des Abwehrsystems beteiligt und treten bei Menschen mit allergischem Asthma vermehrt in der Lunge auf.
Peptidasen für die Bildung Filagrin ↘ (wichtig für die Hautbarriere)	Filagrine vernetzen die Keratine in der Haut und sorgen so für die Festigkeit der Hautbarriere.
Transglutaminase ↘ (wichtig für die Hautbarriere)	ist an der Verhornung der Haut beteiligt. Sie verbindet Proteine und Ceramide in der Hautbarriere. Bei einem erblichen Transglutaminasemangel kommt es zu der sogenannten Fischeschuppenkrankheit.
Proteasehemmer ↘ (wichtig für die Hautbarriere)	verhindern, dass die Abschilferung von Hornschüppchen auf der Hautoberfläche überhand nimmt. (Hautbarriere)

➤ bedeutet Gen ist bei Allergikern aktiver    ↘ Gen ist bei Allergikern weniger aktiv



Die Hautschichten im Überblick anhand einer menschlichen unbehaarten Hautprobe. Die oberste Schicht der Oberhaut (Epidermis) besteht aus verhornten miteinander vernetzten Hautzellen und isolierenden Fettschichten. Hautzellen und Fette bilden die dichte Hautbarriere. Direkt unter dem Netz liegt eine dünne Schicht von Hautzellen, die gerade verhornen, darunter eine dicke Schichten nachwachsender Hautzellen zum Ersatz der ständig abschilfernden Hautzellen der Hornschicht. Die unterste Schicht ist die aus Bindegewebe bestehende Lederhaut (Dermis). *wikicommons / Fama clamosa*

Diese insgesamt 60 Proben wurden mithilfe der Genexpressionsanalyse untersucht. Darüber hinaus bestimmte man, wie viele Lymphozyten und Monozyten, das sind Abwehrzellen, sich in den verschiedenen Hautproben befanden.

Während sich nach sechs Stunden noch kein Unterschied zwischen den verschiedenen Hautproben zeigte, unterschieden sich die mit Hausstauballergen behandelten Hautproben der Allergiker von allen anderen Proben nach 24 Stunden erheblich.

So waren in den mit Hausstauballergen behandelten Hautproben der Allergiker deutlich mehr der oben genannten Abwehrzellen zu finden als in allen anderen Proben.

Bei der Genexpressionsanalyse zeigten 361

Gene in den Proben der Allergiker nach der Provokation mit dem Allergen eine höhere Aktivität und 226 Gene eine geringere Aktivität als die Negativkontrollen und die nicht-allergische Kontrollgruppe. Ein Großteil der aktiveren Gene der Allergiker stand im Zusammenhang mit Entzündung, Wundheilung sowie der Immunantwort. Weniger aktiv bei den Allergikern waren dagegen Gene, die wichtig für den korrekten Aufbau und die gesunde Funktion der Hautbarriere waren.

Bei den nicht allergischen Hunden waren Gene deutlich aktiver, die für die Bildung sogenannter SOCS Proteine codieren. Die SOCS (Suppressor of cytokine signaling proteins) regulieren die Immunantwort und

unterbinden auf diese Weise eventuell eine allergische Reaktion bei den Nicht-Allergikern.

## Grundlage für neue Therapien

Die canine atopische Dermatitis (CAD) kann eine erhebliche Beeinträchtigung der Lebensqualität von Hund und Halter verursachen. Einem Teil der betroffenen Tiere kann mit den heutigen Therapien bereits erfolgreich Linderung verschafft werden. Doch es gibt auch Tiere, bei denen die aktuellen Therapiemaßnahmen nicht ausreichend wirken. Für diese Patienten müssen neue Therapien entwickelt werden. Um hier neue therapeutische Ansatzpunkte zu finden, müssen die genetischen Ursachen und die tatsächlichen Krankheitsprozesse erforscht werden.

Die vorliegende Studie hat hierzu ihren Beitrag geleistet, indem neue Gene identifiziert wurden, die bei der CAD mutmaßlich eine wichtige Rolle spielen und die Beteiligung anderer Gene bei der Erkrankung bestätigt wurden. Darüber hinaus lieferte die

Studie Belege, dass beim Hund wie beim Menschen sowohl der Inside-Out- als auch die Outside-In-Mechanismen den Krankheitsprozess beschreiben können. Ein Teil der identifizierten Gene können eventuell Zielgene für neue Therapien der CAD und Kandidatengene für weiterführende Studien darstellen.

*Barbara Welsch*

### **Titel des Forschungsvorhabens** **Genexpression der Haut atopischer** **(umweltallergischer) Hunde**

#### **Kontakt**

Prof. Ralf S. Mueller, Paz Schamber  
Zentrum für klinische Tiermedizin  
Ludwig-Maximilians-Universität  
Muenchen  
Veterinaerstr. 13  
80539 München

Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e. V.



**Forschung  
für den Hund**

Postfach 14 03 53  
53058 Bonn  
Service-Telefon (0180) 334 74 94  
www.gkf-bonn.de

Volksbank Bonn - BLZ 380 601 86 - KTO 100 10 10 014




UNTERSTÜTZEN  
SIE DIE GKF!



## **Gesellschaft zur Förderung**

## **Kynologischer Forschung e.V.**

Postfach 14 03 53

53058 Bonn

Service-Telefon 0180/3347494

[info@gkf-bonn.de](mailto:info@gkf-bonn.de)

[www.gkf-bonn.de](http://www.gkf-bonn.de)