

Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie

■ Direktor: Prof. Dr. Alexander Kapp

Tel.: 0511/532-7654 • E-Mail: derma@mh-hannover.de • www.mh-hannover.de/dermatologie.html

Forschungsprofil

Der wissenschaftliche Schwerpunkt der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie liegt in der Untersuchung von entzündlichen Hautkrankheiten, von allergischen Erkrankungen und von Tumorerkrankungen der Haut. Dieses spiegelt sich wider sowohl in der Bearbeitung von grundlagenorientierten Forschungsprojekten, die zum größeren Teil von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert werden, als auch in einer Reihe von klinischen Projekten mit unterschiedlicher Förderung. Insbesondere Ekzemkrankheiten wie die atopische Dermatitis oder das allergische Kontaktekzem, aber auch die Urtikaria, Psoriasis, bullöse Autoimmundermatosen sowie zum Vergleich auch respiratorische allergische Erkrankungen werden in diesen Untersuchungen angesprochen. Im April 2008 wurde in der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie die Forschungsabteilung „Immundermatologie und experimentelle Allergologie“ gegründet, in der ein Teil der genannten Forschungsprojekte schwerpunktmäßig bearbeitet wird (siehe auch dort). Der Schwerpunkt Hauttumoren wird durch die Gründung des Hauttumorzentrums Hannover (HTZH) im Jahr 2005 dokumentiert. Im Rahmen des HTZH werden sowohl klinische als auch grundlagenwissenschaftliche Studien bei Hauttumoren durchgeführt mit Focus auf das maligne Melanom und auf Hauttumoren bei Organtransplantation.

Forschungsprojekte

Zielgerichtete Therapie des malignen Melanoms

Die Behandlung des metastasierenden Melanoms war viele Jahre frustrierend. Die Eskalation der medikamentösen Therapie durch Kombination mehrerer Zytostatika/Zytokine konnte keinen Überlebensvorteil im Vergleich zu einer Dacarbazin-Monotherapie zeigen. In den letzten Jahren konnten verschiedene genetisch heterogene Melanom-Subgruppen charakterisiert werden. Die wichtigste ist die der BRAF-mutierten Melanome. Dabei handelt es sich zumeist eine BRAFV600-Mutation, die in ca. 50% aller Melanome nachweisbar ist, vor allem bei jüngeren Patienten mit Primärtumor-Lokalisation im Bereich der intermittierend lichtexponierten Haut. Daneben kommen in weniger als 5% der Melanome KIT-Mutationen vor, welche unterschiedliche Bereiche des KIT-Gens betreffen können und gehäuft bei Melanomen ausgehend von der Schleimhaut, den Akren und chronisch lichtexponierter Haut gefunden werden. Eine weitere Untergruppe sind die NRAS-mutierten Melanome, welche etwa 20% aller Melanome ausmachen. Alle diese Mutationen führen auf unterschiedlichen Ebenen zu einer Aktivierung des RAS-RAF-MEK-ERK-Signalweges.

Bei Patienten mit KIT-mutiertem Melanom ließ sich durch die Therapie mit cKIT-Blockern in einzelnen Fällen und Fallserien ein beeindruckendes Ansprechen erzielen. Leider stellte sich häufig nach einigen Therapiemonaten wieder ein Progress ein. Aufgrund der geringen Patientenzahlen rekrutieren kontrollierte Studien nur langsam.

In zwei internationalen multizentrischen Phase-III-Studien wurden Patienten mit metastasiertem BRAFV600-mutiertem Melanom mit zwei unterschiedlichen selektiven BRAF-Inhibitoren behandelt. Unser Zentrum war bei beiden Studien beteiligt. Es wurde entweder der BRAF-Inhibitor Vemurafenib (BRIM3-Studie) oder der BRAF-Inhibitor Dabrafenib (BREAK3-Studie) eingesetzt, jeweils im Vergleich zu der Standard-Chemotherapie mit Dacarbazin. Darunter zeigte sich bei ca. 80% der Patienten in der BRAF-Inhibitor-Gruppe ein Ansprechen bzw. eine Stabilisierung der Melanomerkkrankung. Das beeindruckende Ansprechen hielt jedoch häufig nur wenige Monate an, die Resistenzentwicklung entstand durch eine alternative Aktivierung des Signalwegs. Vemurafenib und Dabrafenib zeigten zum Teil ungewöhnliche

Nebenwirkungen, primär an Haut (Photosensitivität, Entwicklung von epithelialen und melanozytären Hauttumoren, Exantheme, Hand-Fuß-Syndrome) und Gelenken (Arthralgien).

Ein dritter zielgerichteter Therapieansatz sind die MEK-Inhibitoren, welche den RAS-RAF-MEK-ERK-Signalweg unterhalb von BRAF blockieren. Verschiedene Substanzen werden derzeit als Monotherapie in Phase-II- und Phase-III-Studien bei Patienten mit NRAS-mutiertem Melanom getestet. Die Kombination eines BRAF-Inhibitors und eines MEK-Inhibitors bei BRAF-mutiertem Melanom wird ebenfalls aktuell im Rahmen von Phase-III-Studien getestet. Alle diese Studien werden in unserem Zentrum Patienten mit fortgeschrittenem Melanom angeboten.

Die Erfolge der zielgerichteten Therapie machen deutlich, wie wichtig die molekulare Diagnostik für die Therapieentscheidung und die Prognose der Patienten ist. Derzeit ist unklar, welches Tumorgewebe (Primärtumor oder Metastasengewebe) und welches Verfahren am besten zur Mutationsanalyse geeignet ist.

Wir haben daher eine Studie begonnen, in der wir Tumorgewebe von Melanompatienten mit verschiedenen Verfahren auf eine BRAFV600-Mutation analysieren. Zu diesen Verfahren gehören die Sanger Sequenzierung, die Pyrosequenzierung, der cobas®-Test (ein PCR-basiertes Verfahren), und das next generation sequencing (NGS). Im Gegensatz zu den anderen Verfahren gibt das NGS eine genaue Angabe bezüglich der Allelfrequenz des mutierten Allels.

Zur Bestimmung der Sensitivität der unterschiedlichen Testverfahren wurde eine Melanomzelllinie mit BRAFV600 Mutation und eine andere Melanomzelllinie mit „wildtyp“ BRAF-Status in unterschiedlichen Verhältnissen gemischt, die Zellpellets werden formalinfixiert, in Paraffin eingebettet, DNA extrahiert und auf eine BRAF-Mutation analysiert (Tabelle 1).

%-BRAF-positiver WM35 Zellen	cobasTest	Sanger Sequenzierung	Pyrosequenzierung (Q24)	Pyrosequenzierung (Hot Taq)
100%	positiv	positiv	positiv	positiv
30%	positiv	positiv	positiv	positiv
20%	positiv	positiv	positiv	positiv
10%	positiv	negativ	positiv	positiv
5%	positiv	negativ	negativ	negativ
2,5%	negativ	negativ	negativ	negativ
1%	negativ	negativ	negativ	negativ
0,5%	negativ	negativ	negativ	negativ
0%	negativ	negativ	negativ	negativ

Tab. 1:

Zur Frage, welches Gewebe am besten zur Mutationsanalyse geeignet ist, haben wir von 84 Patienten sowohl Primärtumorgewebe als auch korrespondierendes Metastasengewebe untersucht. Hierbei zeigte sich im NGS eine BRAF V600E-Mutation in mindestens einer Probe in 39 Patienten, bei 25 Patienten ließ sich in allen untersuchten Proben eine Mutation nachweisen. Insgesamt konnten wir bei 17 Patienten diskordante Ergebnisse feststellen (Abbildung 1).

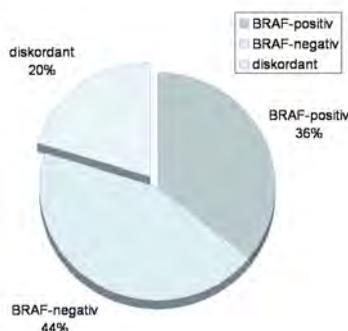


Abb. 1:

Bei 9 Patienten ließ sich nur im Primärtumor eine BRAF V600 E-Mutation nachweisen, Primärtumor, bei 5 Patienten nur in der Metastase.

Diskordante Ergebnisse zwischen Primärtumor und Metastase waren in der Regel technisch bedingt, z. B. durch eine geringe DNA-Ausbeute bei der Extraktion einer Probe oder durch einen geringen Tumorzellanteil einer Probe.

Bei einer BRAFV600E-Mutation erzielen cobas[®]-Test und die Pyrosequenzierung regelmäßige positive Ergebnisse bei einer Allelfrequenz von mindestens 6%, die Sangersequenzierung bei mindestens 14%. In Bezug auf seltenere Mutationen (z. B. BRAFV600K, BRAFV600E2) war der cobas[®]-Test in 15/24 Proben positiv, die Pyrosequenzierung in 13/24 und die Sanger-Sequenzierung in 21/24 Proben.

Zusammengefasst kann man also sagen, dass außer dem aufwendigen NGS-Verfahren die in der Routine eingesetzten Verfahren Stärken und Schwächen haben (Sanger: Detektion von seltenen Mutationen, niedrige Sensitivität; Pyrosequenzierung und cobas[®]: hohe Sensitivität, Problem beim Nachweis seltener Mutationen). Daher empfehlen wir, im Falle eines negativen Testergebnisses möglichst eine weitere Gewebeprobe mit einem anderen Verfahren zu analysieren.

In einem weiteren Projekt stellen wir uns die Frage, ob die Allelfrequenz einer BRAFV600-Mutation mit dem Ansprechen auf eine BRAF-Inhibitor-Therapie korreliert.

Die langfristige Vision ist, praktikable und bezahlbare Assays zu entwickeln, die für Therapie und Resistenzentwicklung relevante Mutationen einschließlich der Allelfrequenz nachweisen.

Zusammengefasst stehen wir am Anfang einer vielversprechenden Ära in der Behandlung des metastasierenden Melanoms, die jedoch auch mit Herausforderungen einhergeht, z. B. in Bezug auf das Vorgehen bei Resistenzentwicklung und bei Nebenwirkungen.

■ Projektleitung: Satzger, Imke (Dr. med.), Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Schacht-Stahlbock, Vivien (PD Dr. med.) / Kreipe, Hans-H. (Prof. Dr. med.), Inst. für Pathologie, MHH; Timmermann, Bernd (Dr. rer. medic.), Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin; Rüschoff, Josef (Prof. Dr. med.), targos GmbH, Kassel; Förderung: Industrie

Weitere Forschungsprojekte

Untersuchungen zur Rolle des Histamin H4 Rezeptors im Vergleich zu anderen Rezeptoren bei allergischen Entzündungen der Haut

■ Projektleitung: Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.), Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: DFG Gu434/5-2, EU (COST action BM0806, Recent advances in Histamine receptor H4R research)

Autoreaktive T-Lymphozyten bei atopischer Dermatitis

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: DFG, Klinische Forschergruppe 250, Teilprojekt 6: WE 1289/8-1 AOBJ: 579752

KMU-Innovativ-6: Entwicklung des Vorproduktes eines Therapeutikums zur effizienten kutanen Infektionsabwehr und Wundheilung durch die Kombination verschiedener humaner antimikrobieller Peptide

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMBF, Projektträger Jülich (ptj): 0315917B

Entwicklung eines medizinischen UV-Bestrahlungsgerätes mit Minimierung des Karzinomrisikos durch umfeldfreie Bestrahlung und mit automatischer Konturierung sowie genau definierbaren Dosen der Bestrahlungsfelder

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117402 FR9

Entwicklung eines digitalen Dermatoskopiegerätes mit erweitertem Diagnoseumfang für das automatisierte Ganzkörper-Hautkrebs-Screening (HKS)

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117405FR1

Entwicklung eines neuen innovativen Medikaments zur Behandlung Th1-vermittelter chronisch entzündlicher Hauterkrankungen auf der Basis eines Tbet-spezifischen DNAszyms

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117403 FR0

Schulungsprogramm zur besseren Versorgung von Erwachsenen mit atopischer Dermatitis (Neurodermitis) - Nationale prospektive randomisierte Multizenterstudie

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.); Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Gieler, Uwe (Prof. Dr. med.), Justus-Liebig-Universität Gießen; Förderung: Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG)

Präklinische Evaluation von selbst-differenzierenden und selbst-eliminierenden dendritischen Zellen zum Einsatz in der immunologischen und zytotoxischen Therapie des malignen Melanoms

■ Projektleitung: Satzger, Imke (Dr. med.); Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Stripecke, Renata (Prof. Dr. med.), Klinik für Hämatologie und Onkologie, MHH; Förderung: Deutsche Krebshilfe

Untersuchung der spezifischen T-Zell-Antwort auf Hausstaubmilbenallergene bei erwachsenen Patienten mit atopischer Dermatitis

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.); Förderung: MHH (HiLF)

Untersuchungen zu neuroimmunen Mechanismen bei chronisch entzündlichen Hauterkrankungen

■ Projektleitung: Raap, Ulrike (Prof. Dr. med.); Kapp, Alexander (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM)

Charakterisierung von basophilen und eosinophilen Granulozyten bei bullösen Autoimmundermatosen

■ Projektleitung: Raap, Ulrike (Prof. Dr. med.); Förderung: Förderung: MHH (LOM)

Pathogenetische Rolle der miRNA beim malignen Melanom

■ Projektleitung: Satzger, Imke (Dr. med.); Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM)

Pathogenetische Rolle von Granulozyten bei allergischen Entzündungsreaktionen der Haut und ihre Modulation durch anti-inflammatorische Medikamente

■ Projektleitung: Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM)

Prognostische und therapeutische Konsequenzen der Schildwächterlymphknotenbiopsie bei Melanompatienten

■ Projektleitung: Satzger, Imke (Dr.med.); Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM) und Wirtschaft

Apoptosemechanismen eosinophiler Granulozyten

■ Projektleitung: Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM) und Wirtschaft

Untersuchung anti-inflammatorischer Medikamente auf die Serumaktivität bei Autoimmunurtikaria

■ Projektleitung: Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM) und Wirtschaft

Untersuchungen zur Pathogenese der chronischen Urtikaria

■ Projektleitung: Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM) und Wirtschaft

In-vitro Diagnostik von Arzneimittelüberempfindlichkeitsreaktionen

■ Projektleitung: Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: MHH (LOM) und Wirtschaft

Effekte von mTOR Inhibitoren auf humane Keratinozyten und Plattenepithelkarzinome in vitro

■ Projektleitung: Alter, Mareike (Dr. med.), Satzger, Imke (Dr. med.), Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Förderung: Wirtschaft

Untersuchungen des Effekts von Pollenexpositionen in einem Expositionsraum auf die Haut bei Patienten mit atopischer Dermatitis (Neurop)

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.), Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Hohlfeld, Jens (Prof. Dr. med.); Fraunhofer ITEM; Förderung: Wirtschaft

Impact of the TNF-alpha inhibitor Etanercept on TLR-2 and staphylococcal exotoxin induced immunological effects in monocytes/macrophages from patients with psoriasis

■ Projektleitung: Niebuhr, Margarete (Dr. med.); Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: Wirtschaft

Funktioneller Einfluss von Xolair auf basophile Granulozyten

■ Projektleitung: Raap, Ulrike (Prof. Dr. med.); Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.); Förderung: Wirtschaft

Hauterkrankungen bei Patienten nach Organtransplantation

■ Projektleitung: Satzger, Imke (Dr. med.); Alter, Mareike (Dr. med.); Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.); Förderung: Wirtschaft

Originalpublikationen

Alase A, Seltmann J, Werfel T, Wittmann M. Interleukin-33 modulates the expression of human beta-defensin 2 in human primary keratinocytes and may influence the susceptibility to bacterial superinfection in acute atopic dermatitis. *Br J Dermatol*; 2012;167(6):1386-1389

Boehm D, Schmid-Ott G, Finkeldey F, John SM, Dwinger C, Werfel T, Diepgen TL, Breuer K. Anxiety, depression and impaired health-related quality of life in patients with occupational hand eczema. *Contact Dermatitis*; 2012;67(4):184-192

Böhm D, Stock Gissendanner S, Bangemann K, Snitjer I, Werfel T, Weyergraf A, Schulz W, Jäger B, Schmid-Ott G. Perceived relationships between severity of psoriasis symptoms, gender, stigmatization and quality of life. *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 2013;27(2):220-226

Böhm M, Zmijewski MA, Wasiewicz T, Straub RH, Raap U, Luger TA, Slominski A. KU812 basophils express urocortin, CRH-R, MC1R and steroidogenic enzymes and secrete progesterone. *Exp Dermatol*; 2012;21(7):541-543

Durham SR, Emminger W, Kapp A, de Monchy JG, Rak S, Scadding GK, Wurtzen PA, Andersen JS, Tholstrup B, Riis B, Dahl R. SQ-standardized sublingual grass immunotherapy: confirmation of disease modification 2 years after 3 years of treatment in a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol*; 2012;129(3):717-725.e5

Genzenmueller T, Yakushko Y, Kluba J, Henke-Gendo C, Gutzmer R, Schulz TF. Next-generation sequencing fails to identify human virus sequences in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*; 2012;131(7):E1173-9

2012;131(7):E1173-9

Grob JJ, Jouary T, Dréno B, Asselineau J, Gutzmer R, Hauschild A, Leccia MT, Landthaler M, Garbe C, Sassolas B, Herbst RA, Guillot B, Chene G, Pehamberger H. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b (36months) versus low-dose interferon alfa-2b (18months) in melanoma patients without macrometastatic nodes: An open-label, randomised, phase 3 European Association for Dermato-Oncology (EADO) study. *Eur J Cancer*; 2013;49(1):166-174

Gschwandtner M, Bunk H, Köther B, Thurmond RL, Kietzmann M, Werfel T, Baumer W, Gutzmer R. Histamine down-regulates IL-27 production in antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol*; 2012;92(1):21-29

Gschwandtner M, Mildner M, Mlitz V, Gruber F, Eckhart L, Werfel T, Gutzmer R, Elias PM, Tschachler E. Histamine suppresses epidermal keratinocyte differentiation and impairs skin barrier function in a human skin model. *Allergy*; 2013;68(1):37-47

Haenssle HA, Kraus SL, Brehmer F, Kretschmer L, Völker B, Asper H, Kapp A, Gutzmer R. Dynamic Changes in Nevi of a Patient With Melanoma Treated With Vemurafenib: Importance of Sequential Dermoscopy. *Arch Dermatol*; 2012;148(10):1183-1185

Hartmann K, Wagner N, Rabenhorst A, Pflanz L, Leja S, Förster A, Gehring M, Kapp A, Raap U. Serum IL-31 levels are increased in a subset of patients with mastocytosis and correlate with disease severity in adult patients. *J Allergy Clin Immunol*; 2012;DOI: 10.1016/j.jaci.2012.11.008

- Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, Rutkowski P, Blank CU, Miller WH Jr, Kaempgen E, Martin-Algarra S, Karaszewska B, Mauch C, Chiarion-Sileni V, Martin AM, Swann S, Haney P, Mirakhor B, Guckert ME, Goodman V, Chapman PB. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multi-centre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*; 2012;380(9839):358-365
- Kasraie S, Niebuhr M, Kopfnagel V, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Werfel T. Macrophages from patients with atopic dermatitis show a reduced CXCL10 expression in response to staphylococcal alpha-toxin. *Allergy*; 2012;67(1):41-49
- Kopfnagel V, Wittmann M, Werfel T. An AIM2 inflammasome is active in human keratinocytes: Response to letter from Dombrowski et al.: Comment on Kopfnagel et al. *Exp Dermatol*. 2011 Dec; 20(12):1027-9. *Exp Dermatol*; 2012;21(6):475-476
- Kremer AE, van Dijk R, Leckie P, Schaap FG, Kuiper EM, Mettang T, Reiners KS, Raap U, van Buuren HR, van Erpecum KJ, Davies NA, Rust C, Engert A, Jalan R, Oude Elferink RP, Beuers U. Serum autotaxin is increased in pruritus of cholestasis, but not of other origin, and responds to therapeutic interventions. *Hepatology*; 2012;56(4):1391-1400
- Magerl M, Rother M, Bieber T, Biedermann T, Brasch J, Dominicus R, Hunzelmann N, Jakob T, Mahler V, Popp G, Schakel K, Schlingensiepen R, Schmitt J, Siebenhaar F, Simon JC, Staubach P, Wedi B, Weidner C, Maurer M. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy of miltefosine in antihistamine-resistant chronic spontaneous urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 2013;27(3):e363-e369
- Merk HF, Werfel T. Spannend und praxisrelevant: Fortschritte in der Diagnostik der Nahrungsmittelallergien. *Hautarzt* 2012;63(4):286-287
- Mommert S, Gschwandner M, Koether B, Gutzmer R, Werfel T. Human memory Th17 cells express a functional histamine H4 receptor. *Am J Pathol*; 2012;180(1):177-185
- Niebuhr M, Baumer W, Kietzmann M, Wichmann K, Heratizadeh A, Werfel T. Participation of complement 3a receptor (C3aR) in the sensitization phase of Th2 mediated allergic contact dermatitis. *Exp Dermatol*; 2012;21(1):52-56
- Novak N, Bieber T, Hoffmann M, Fölster-Holst R, Homey B, Werfel T, Sager A, Zuberbier T. Efficacy and safety of subcutaneous allergen-specific immunotherapy with depigmented polymerized mite extract in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*; 2012;130(4):925-31.e4
- Pedersen E, Wang Z, Stanley A, Peyrollier K, Rösner LM, Werfel T, Quondamatteo F, Brakebusch C. RAC1 in keratinocytes regulates crosstalk to immune cells by Arp2/3 dependent control of STAT1. *J Cell Sci*; 2012;125(Pt.22):5379-5390
- Pincha M, Sundarasetty BS, Salguero G, Gutzmer R, Garritsen H, Macke L, Schneider A, Lenz D, Figueiredo C, Blasczyk R, Ruggiero E, Schmidt M, von Kalle C, Puff C, Modlich U, von der Leyen H, Wicke DC, Ganser A, Stripecke R. Identity, potency, in vivo viability, and scaling up production of lentiviral vector-induced dendritic cells for melanoma immunotherapy. *Hum Gene Ther Methods*; 2012;23(1):38-55
- Raap U, Weissmantel S, Gehring M, Eisenberg AM, Kapp A, Fölster-Holst R. IL-31 significantly correlates with disease activity and Th2 cytokine levels in children with atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol*; 2012;23(3):285-288
- Satzger I, Mattern A, Kuettler U, Weinspach D, Niebuhr M, Kapp A, Gutzmer R. microRNA-21 is upregulated in malignant melanoma and influences apoptosis of melanocytic cells. *Exp Dermatol*; 2012;21(7):509-514
- Schefzyk M, Richter E, Röhrbein JH, Schaefer T, Wedi B, Raap U. Das Schicksal von 20 Brassen. *Mycobacterium-marinum*-Infektion. *Hautarzt*; 2012;63(9):716-718
- Schmidts T, Marquardt K, Schlupp P, Dobler D, Heinz F, Mader U, Garn H, Renz H, Zeitvogel J, Werfel T, Runkel F. Development of drug delivery systems for the dermal application of therapeutic DNAszymes. *Int J Pharm*; 2012;431(1-2):61-69
- Schnuch A, Mahler V, Elsner P, John SM, Reusch M, Merk H, Ott H Bufe A, Przybilla B, Kleine-Tebbe J, Werfel T, Nowak D. Allergiediagnostik mit dem Epikutantest droht das Aus. *Hautarzt*; 2012;63(3):250-252
- Sieber J, Neis M, Brehler R, Fölster-Holst R, Kapp A, Klimek L, Merk H. Increasing long-term safety of seasonal grass pollen sublingual immunotherapy: the ECRIT study. *Expert Opin Drug Saf*; 2012;11(1):7-13
- Ständer S, Raap U. Pruritus. *Hautarzt*; 2012;63(7):520
- van Beek N, Knuth-Rehr D, Altmeyer P, Assaf C, Babilas P, Bayerl C, Benoit S, Dippel E, Effendy I, Eming R, Fischer M, Glaenz T, Glaser R, Goebeler M, Gollnick H, Gotze S, Gross G, Hadaschik E, Herbst R, Hermes B, Homey B, Hunzelmann N, Junger M, Kapp A, Kern JS, Korber A, Luger T, Mechtel D, Megahed M, Moll I, Peters KP, Pfeiffer C, Ring J, Rocken M, Sardy M, Seitz CS, Stadler R, Steinbrink K, Sticherling M, Szeimies RM, Tronnier M, Ulrich J, Vogt T, Wagner N, Welzel J, Wenzel J, Wozel G, Zouboulis CC, Zillikens D, Schmidt E. Diagnostics of autoimmune bullous diseases in German dermatology departments. *J Dtsch Dermatol Ges*; 2012;10(7):492-499
- Werfel T. Editorial. *Allergologie*; 2012;35(4):159
- Werfel T. Editorial. *Allergologie*; 2012;35(7):333-334
- Werfel T. Editorial. *Allergologie*; 2012;35(2):57-58
- Werfel T. Editorial. *Allergologie*; 2012;35(8):389-390
- Wittmann M, Doble R, Bachmann M, Pfeilschifter J, Werfel T, Mühl H. IL-27 Regulates IL-18 binding protein in skin resident cells. *PLoS One*; 2012;7(6):e38751
- Zeitvogel J, Dalpke A, Eiz-Vesper B, Kracht M, Dittrich-Breiholz O, Werfel T, Wittmann M. Human primary keratinocytes show restricted ability to up-regulate suppressor of cytokine signaling (SOCS)3 protein compared with autologous macrophages. *J Biol Chem*; 2012;287(13):9923-9930

Zeitvogel J, Werfel T, Wittmann M. IL-27 acts as a priming signal for IL-23 but not IL-12 production on human antigen-presenting cells. *Exp Dermatol*; 2012;21(6):426-430

Zuberbier T, Werfel T. Is European legislation killing allergy diagnostics? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*; 2012;12(5):475-476

Übersichtsarbeiten

Bork K, Maurer M, Bas M, Hartmann K, Biedermann K, Kreuz W, Aygören-Pürsün E, Martinez-Saguer I, Ott H, Wedi B. Hereditäres Angioödem durch C1-Inhibitor-Mangel. *Allergo J*; 2012;2(109-118)

Boyman O, Werfel T, Akdis CA. The suppressive role of IL-10 in contact and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*; 2012;129(1):160-161

Gutzmer R, Wollenberg A, Ugurel S, Homey B, Ganser A, Kapp A. Cutaneous side effects of new antitumor drugs: clinical features and management. *Dtsch Arztebl Int*; 2012;109(8):133-140

Homey B, Gerber PA, Wollenberg A, Dirschka T, Hassel JC, Bolke E, Hauschild A, Gutzmer R. Escalating therapy of cutaneous side effects of EGFR inhibitors: experience of German reference centers. *J Dtsch Dermatol Ges*; 2012;10(8):559-563

Konstantinou GN, Asero R, Ferrer M, Knol EF, Maurer M, Raap U, Schmid-Grendelmeier P, Skov PS, Grattan CE. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria. *Allergy*; 2013;68(1):27-36

Papadopoulos NG, Agache I, Bavbek S, Bilo BM, Braido F, Cardona V, Custovic A, Demonchy J, Demoly P, Eigenmann P, Gayraud J, Grattan C, Heffler E, Hellings PW, Jutel M, Knol E, Lotvall J, Muraro A, Poulsen LK, Roberts G, Schmid-Grendelmeier P, Skevaki C, Triggiani M, Vanree R, Werfel T, Flood B, Palkonen S, Savli R, Allegrri P, Annesi-Maesano I, Annunziato F, Antolin-Amerigo D, Apfelbacher C, Blanca M, Bogacka E, Bonadonna P, Bonini M, Boyman O, Brockow K, Burney P, Buters J, Butiene I, Calderon M, Cardell LO, Caubet JC, Celenk S, Cichocka-Jarosz E, Cingi C, Couto M, Dejong N, Del Giacco S, Douladiris N, Fassio F, Fauquert JL, Fernandez J, Rivas MF, Ferrer M, Flohr C, Gardner J, Genuit J, Gevaert P, Groblewska A, Hamelmann E, Hoffmann HJ, Hoffmann-Sommergruber K, Hovhannisyán L, Hox V, Jahnsen FL, Kalayci O, Kalpaklioglu AF, Kleine-Tebbe J, Konstantinou G, Kurowski M, Lau S, Lauener R, Lauerma A, Logan K, Magnan A, Makowska J, Makrinioti H, Mangina P, Manole F, Mari A, Mazon A, Mills C, Mingomataj E, Niggemann B, Nilsson G, Ollert M, O'Mahony L, O'Neil S, Pala G, Papi A, Passalacqua G, Perkin M, Pfaar O, Pitsios C, Quirce S, Raap U, Raulf-Heimsoth M, Rhyner C, Robson-Ansley P, Alves RR, Roje Z, Rondon C, Rudzeviciene O, Rueff F, Rukhadze M, Rumi G, Sackesen C, Santos AF, Santucci A, Scharf C, Schmidt-Weber C, Schnyder B, Schwarze J, Senna G, Sergejeva S, Seys S, Siracusa A, Skypala I, Sokolowska M, Spertini F, Spiewak R, Sprickelman A, Sturm G, Swoboda I, Terreehorst I, Toskala E, Traidl-Hoffmann C, Venter C, Vlieg-Boerstra B, Whitacker P, Worm M, Xepapadaki P, Akdis CA. Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA. *Clin Transl Allergy*; 2012;2(1):21-7022-2-21

Przybilla B, Ruëff F, Walker A, Räwer H-C, Aberer W, Bauer CP, Berdel D, Biedermann T, Brockow K, Forster J, Fuchs Th, Hamelmann E, Jakob T, Jarisch R, Merk HF, Müller U, Ott H, Sitter W, Urbanek R, Wedi B. Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. *Allergologie*; 2012;35(11):563-589

Raap U, Kapp A, Darsow U. Psychopharmakotherapie bei Pruritus: Sinnvoll oder nicht? *Hautarzt*; 2012;63(7):553-557

Raap U, Ständer S. Juckreizerkrankungen der Haut. *Klinische Neurophysiologie*; 2012;43(4):284-288
Raap U, Stiesch M, Kapp A. Contact allergy to dental materials. *J Dtsch Dermatol Ges*; 2012;10(6):391-6; quiz 397

Raap U, Stiesch M, Kapp A. Klinische Symptomatik und Diagnostik allergischer Reaktionen der Mundschleimhaut. *Hautarzt*; 2012;63(9):687-692

Reese I, Ballmer-Weber B, Beyer K, Erdmann S, Fuchs T, Kleine-Tebbe J, Klimek L, Lepp U, Henzgen M, Niggemann B, Saloga J, Schäfer C, Werfel T, Zuberbier T, Worm M. Vorgehen bei Verdacht auf Unverträglichkeit gegenüber oral aufgenommenem Histamin: Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI), der Gesellschaft für Pädiatrische Allergologie und Umweltmedizin (GPA) und des Ärzteverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA). *Allergologie*; 2012;35(7):335-342

Ring J, Alomar A, Bieber T, Deleuran M, Fink-Wagner A, Gelmetti C, Gieler U, Lipozencic J, Luger T, Oranje AP, Schäfer T, Schwennesen T, Seidenari S, Simon D, Ständer S, Stingl G, Szalai S, Szepietowski JC, Taieb A, Werfel T, Wollenberg A, Darsow U. European Dermatology Forum (EDF), European Academy of Dermatology and Venerology (EADV), European Federation of Allergy (EFA), European Task Force on Atopic Dermatitis (ETFAD), European Society of Pediatric Dermatology (ESPD), Global Allergy and Asthma European Network (GA2LEN). Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 2012;26(8):1045-1060

Ring J, Alomar A, Bieber T, Deleuran M, Fink-Wagner A, Gelmetti C, Gieler U, Lipozencic J, Luger T, Oranje AP, Schäfer T, Schwennesen T, Seidenari S, Simon D, Ständer S, Stingl G, Szalai S, Szepietowski JC, Taieb A, Werfel T, Wollenberg A, Darsow U. European Dermatology Forum, European Academy of Dermatology and Venerology, European Task Force on Atopic Dermatitis, European Federation of Allergy, European Society of Pediatric Dermatology, Global Allergy and Asthma European Network. Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) Part II. *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 2012;26(9):1176-1193

Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, Dubois AE, Beyer K, Eigenmann PA, Spergel JM, Werfel T, Chinchilli VM. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol*; 2012;130(6):1260-1274

Ständer S, Blome C, Breil B, Bruland P, Darsow U, Dugas M, Evers A, Fritz F, Metz M, Phan NQ, Raap U, Reich A, Schneider G, Steinke S, Szepietowski J, Weisshaar E, Augustin M. Erfassung von Pruritus

- aktuelle Standards und Implikationen für die Praxis: Konsensuspapier der Initiative Pruritusparameter der Arbeitsgemeinschaft Pruritusforschung (AGP). *Hautarzt*; 2012;63(7):521-531

Wichmann K, Heratizadeh A, Werfel T. Nahrungsmittelallergie bei atopischer Dermatitis. *Hautarzt*; 2012;63(4):315-324

Zuberbier T, Aberer W, Brockow K, Grabbe J, Hamelmann E, Hartmann K, Jakob T, Maurer M, Merk HF, Ollert M, Rueff F, Schmid-Grendelmeier P, Staubach P, Voigtmann I, Wedi B. S3-Leitlinie Urtikaria. Teil 2: Therapie der Urtikaria - deutschsprachige Version der internationalen S3-Leitlinie. *Allergologie*; 2012;35(4):187-208

Abstracts

2012 wurden 25 Abstracts publiziert.

Promotionen

Märtens, Nicole (Dr. med.): Die immunmodulatorische Rolle von Neurotrophinen und die Neurotrophinrezeptorexpression auf den peripheren eosinophilen Granulozyten.

Meier, Andre (Dr. med.): Vergleich von Klassifikationen in der Beurteilung der Schildwächterlymphknoten beim malignen Melanom: eine Analyse von 697 Patienten.

Renne, Julius Joachim (Dr. med.): Interaktion von kutanen Epithelzellen mit T-Zellen im autologen Modell.

Rössing, Kirsten Martina (Dr. med.): Brain-derived neurotrophic factor ist erhöht im Serum und in Hautschichten von Patienten mit chronisch spontaner Urtikaria.

Schefzyk, Matthias (Dr. med.): Alpha-Melanozyten-stimulierendes Hormon im neuroimmunen Netzwerk der atopischen Dermatitis: antiinflammatorische Modulation der Effektorfunktionen eosinophiler Granulozyten in vitro.

Wissenschaftspreise

Raap, Ulrike (Prof. Dr. med.): Forschungsförderpreis Novartis auf der XXXIX Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF) für ihr Projekt „Functional implications of Omalizumab on human basophils in chronic urticaria“.

Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.): Forschungsförderpreis Novartis auf der XXXIX Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF) für ihr Projekt „Functional implications of Omalizumab on human basophils in chronic urticaria“.

Jantzen, Franziska (Dr. rer. nat.): Early Stage Researcher Award der EU COST BM0806 Action verbunden mit einem Reisestipendium für ihre Präsentation „The Th1-associated cytokine CXCL10/IP-10 is downregulated in monocytes and myeloid dendritic cells - an effect possibly mediated via different histamine receptors in both cell types“.

Jantzen, Franziska (Dr. rer. nat.): 1. Posterpreis auf dem Annual Meeting der European Histamine Research Society für den Beitrag mit dem Titel: Jantzen F, Werfel T, Gutzmer R. The Th1-associated cytokine CXCL10/IP-10 is downregulated by histamine in monocytes and myeloid dendritic cells - an effect possibly mediated via different histamine receptors in both cell types.

Mommert, Susanne (Dr. rer. nat.): Early Stage Researcher Award der EU COST BM0806 Action verbunden mit einem Reisestipendium für ihre Präsentation „Comperative mRNA expression profiling in non-stimulated versus H4R-stimulated human lymphocytes“.

Degen, Annette: Posterpreis der ADO für den Beitrag: Degen A, Satzger I, Asper H, Kapp A, Hauschild A, Gutzmer R. Unerwartete ausgeprägte kutane Nebenwirkung unter der kombinierten Behandlung mit einem B-Raf-Inhibitor und gleichzeitiger Radiotherapie.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Kapp, Alexander (Prof. Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit; Hauptschriftleiter der Zeitschrift DER HAUTARZT.

Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit: Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); DFG-Fachkollegiat (seit 04-2012); Hauptschriftleiter der Zeitschrift *Allergologie*; Deputy Editor J. Invest. Dermatol.; Section Editor Dermatology in *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, Mitglied der Editorial Boards von *DER HAUTARZT*, *JDDG*, *Allergo J*, *Allergy*, *Int Arch Allergy Clin Immunol*; Mitglied im Vorstand (ExCom) der Europäischen Akademie für Allergologie und klinische Immunologie (EAACI), Vizepräsident der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI).

Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit: Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Deutsche Krebshilfe; Vorstandsmitglied der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie (ADO); Ärztliches Mitglied der Schlichtungsstelle der norddeutschen Ärztekammern; Arbeitsgruppenleiter bei der Erstellung der S3-Leitlinie „Malignes Melanom“.

Raap, Ulrike (Prof. Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit; Promotionsgutachter der Charite Berlin, Gutachter der Innovativen Medizinischen Forschung (IMF) Universitätsklinikum Münster, Gutachter Deutsche Forschungsgesellschaft (DFG), Gutachter Research Foundation Flanders Belgien (FWO). Mitglied der Task Force European Exam on Allergy and Clinical Immunology der European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI); Board Member der Section Dermatology der EAACI; Mitglied des wissenschaftlichen Beirates der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI).

Wedi, Bettina (Prof. Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit für nationale und internationale Journale; Mitglied des Editorial Board von *Case Reports in Medicine*; Associate Editor von *DER HAUTARZT*; Mitglied des Advisory Boards der Zeitschriften *Allergologie* und *Allergo J*; Mitglied des Web Editorial Board der World Allergy Organisation (WAO); Vertrauensdozent der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF); Sprecher der Sektion Dermatologie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI); Mitglied des wissenschaftlichen Beirats der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI); Leitlinienbeauftragter der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI); Leiter Subkommission Allergologie der Kommission Qualitätssicherung der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG).

Niebuhr, Margarete (PD Dr. med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit für internationale Journale; Sektionssprecher der Junior-Member-Sektion der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI).

Heratizadeh, Annice (Dr.med.): Wissenschaftliche Gutachtertätigkeiten für internationale Journale.

Forschungsabteilung Immundermatologie und experimentelle Allergologie

■ Leiter: Prof. Dr. Thomas Werfel

Tel.: 0511/532-5092 • E-Mail: werfel.thomas@mh-hannover.de • www.mh-hannover.de/immundermatologie.html

Forschungsprofil

Der wissenschaftliche Schwerpunkt der Forschungsabteilung Immundermatologie und experimentelle Allergologie liegt in der Untersuchung von allergischen Erkrankungen mit Manifestationen an der Haut, von chronisch entzündlichen Hautkrankheiten und von Autoimmunerkrankungen der Haut. In den Projekten der Forschungsabteilung stehen Untersuchungen zu Ekzemkrankheiten (atopische Dermatitis, allergisches Kontaktekzem) und zur Psoriasis derzeit im Mittelpunkt. Die Forschungsabteilung wurde im April 2008 innerhalb der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie der MHH gegründet. Ihre laufenden Projekte sind naturgemäß thematisch mit der Klinik eng vernetzt, sowohl in Bezug auf die grundlagenorientierten Forschungsprojekte, die zum größeren Teil von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert werden, als auch in Bezug auf die klinisch-wissenschaftlichen Projekte. In diesem Forschungsbericht wird eine ausgewählte Thematik dargestellt und eine Auswahl von weiteren Projekten, die im Fokus der Forschungsabteilung stehen, aufgelistet. Um Redundanzen zu vermeiden, wird bei den Publikationen auf den Bericht der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie verwiesen.

Forschungsprojekte

Forschungsschwerpunkt: Autoimmunität bei atopischer Dermatitis

Bei atopischer Dermatitis (AD) handelt es sich um eine entzündliche Hauterkrankung mit chronisch-rezidivierendem Verlauf. Wie bei allen Ekzemkrankheiten ist ein T-Zell-dominiertes mononukleäres Hautinfiltrat in der Haut nachweisbar, welches maßgeblich zur klinischen Symptomatik beiträgt. Dendritische Zellen in der Haut können an IgE-gebundene Allergene durch Interaktion mit Fc ϵ -Rezeptoren internalisieren, im Zellinneren prozessieren und auf ihrer Oberfläche T-Zellen präsentieren, die so aktiviert werden.

Ungefähr 80% der erwachsenen Patienten mit atopischer Dermatitis haben Sensibilisierungen gegenüber saisonalen sowie perennialen Aeroallergenen und/oder Lebensmittelallergenen, die mit Allergen-spezifischen IgE und Allergen-spezifischen T-Zellen assoziiert sind. Die Spezifität eines Großteils dieser IgE-Antikörper bleibt jedoch bei stark erhöhten Gesamt-IgE-Spiegeln unbekannt, wobei in den letzten Jahren in einer Reihe von Untersuchungen autoreaktive IgE bei atopischer Dermatitis beschrieben wurden.

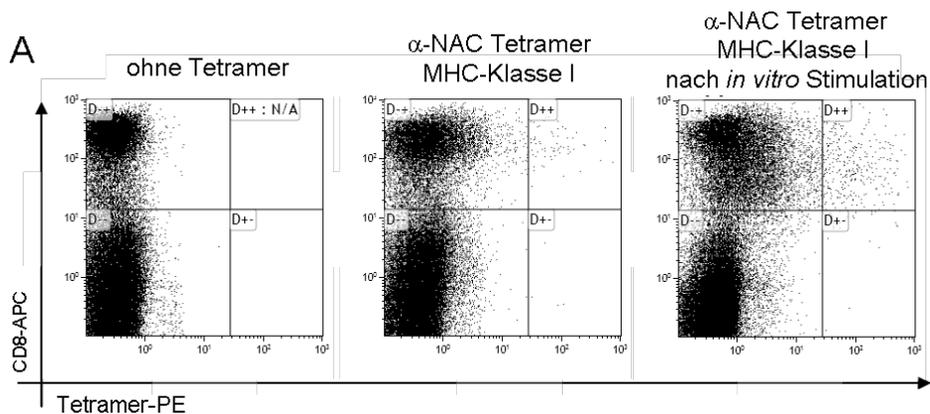
Darüber hinaus weist eine bedeutende Anzahl an Patienten mit atopischer Dermatitis keine Allergen-spezifischen IgE-Sensibilisierungen auf, weshalb vorgeschlagen wurde, die Bezeichnung zu ändern (z.B. in konstitutionelle Dermatitis). Bezüglich dieser nicht-allergischen, sogenannten intrinsischen Form der atopischen Dermatitis wird seit längerem diskutiert, inwiefern Autoreaktivität zum oft auch chronischen Krankheitsbild beitragen könnte.

I) Kürzlich konnten wir immundominante T-Zell-Epitope des Autoallergens α -NAC identifizieren. Das gemäß der Allergen-Nomenklatur der IUIS (International Union of Immunological Societies) auch als Hom s 2 (Homo sapiens Allergen 2) bezeichnete humane Protein α -NAC (α -Untereinheit des „nascent polypeptide-associated complex“) ist als Chaperon ubiquitär an der Proteinsynthese innerhalb der Zelle beteiligt. Bei α -NAC handelt es sich um ein normalerweise intrazelluläres, Atopie-assoziiertes Autoantigen ohne vorbekannte generelle Kreuzreaktivität zu Umweltallergenen. Seine Eigenschaft als Autoantigen („Autoallergen“) bei atopischer Dermatitis wurde initial auf humoraler Ebene (d.h.

durch den Nachweis von spezifischen IgE) beschrieben. Im eigenen Kollektiv konnten wir bei 23% der AD-Patienten α -NAC-spezifisches IgE im Serum nachweisen und charakterisierten in einer Studie α -NAC-reaktive T-Zellen aus der Zirkulation sowie aus läsionaler Haut.

Die Erkenntnisse über die immundominanten T-Zell-Epitope ermöglichten die Generierung von MHC-Klasse-I Tetrameren in Kooperation mit der Tetramer Core Facility der NIH (Atlanta, USA) und von MHC-Klasse-II Tetrameren in Kooperation mit W.W. Kwok (Seattle, USA). Durch den Einsatz dieser Reagenzien konnten erstmalig α -NAC-spezifische CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten im Blut von sensibilisierten Patienten identifiziert werden. Durchflusszytometrische Messungen zeigten eine Frequenz Tetramer-bindender T-Zellen in sensibilisierten Patienten nach Anreicherung durch *in vitro*-Stimulation von etwa 0,05-2,5%. Wie bereits für andere Allergene beschrieben, konnten in unseren Untersuchungen auch in gesunden Kontrollindividuen, wenn auch mit niedrigeren Frequenzen, Tetramer-bindende T-Zellen identifiziert werden.

Um der Schwierigkeit der geringen Frequenzen von Tetramer-bindenden T-Lymphozyten zu begegnen, steht uns in Kooperation mit Christian Hennig und Gesine Hansen (Klinik für pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie, MHH) mit der Etablierung der „Chipcytometry“ eine Analysetechnik zur Verfügung, die einen hohen Informationsgehalt für jede einzelne Zelle liefert (www.chipcytometry.com). Speziell für diese Anwendung wurde ein Protokoll entwickelt, wonach im Anschluss an die Fluoreszenzfärbung von Antigen-spezifischen T-Zellen mithilfe von MHC-Tetrameren und mehreren Anreicherungsschritten die Zielzellen mit einem eigens zu diesem Zweck evaluierten Set an Fluoreszenz-markierten Antikörpern untersucht werden können. Auf diese Weise können für jede einzelne Zelle Aussagen über den Subtyp sowohl bezüglich der Polarisierung als auch der Differenzierung getroffen werden. Besonderes Augenmerk legen wir auf den Differenzierungsstatus der Autoantigen-spezifischen Zellen. Mittels Färbung mit CD27-spezifischen Antikörpern konnten wir einen höheren Anteil terminal differenzierter α -NAC-spezifischer T-Zellen in Patienten mit atopischer Dermatitis, bei denen α -NAC-spezifisches IgE nachweisbar war, gegenüber gesunden Kontrollen detektieren. Auf diese Weise konnten wir zwei Tetramer-bindende T-Zellsubpopulationen identifizieren (Abb.1), die pathologische (CD27-) bzw. protektive (CD27+) Immunantworten hervorrufen und bei „klassischen“ Allergien vermehrt vor (CD27-) bzw. nach (CD27+) erfolgreicher Hyposensibilisierungstherapie beschrieben wurden.



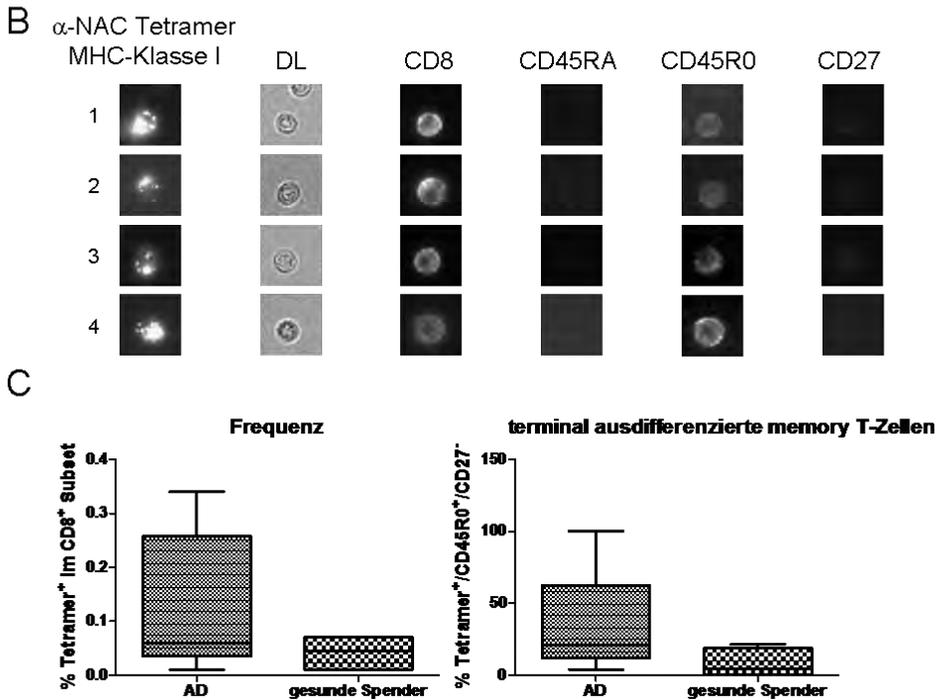


Abb. 1: Einsatz von MHC-Tetrameren zur Identifikation und Charakterisierung von autoreaktiven, α -NAC-spezifischen T-Lymphozyten. **A.** Isolierte PBMC eines Patienten mit atopischer Dermatitis und bekannter humoraler Sensibilisierung gegen α -NAC wurden mit einem spezifischen MHC Klasse I-Tetramer inkubiert und die Bindung an CD8+ T-Zellen im Durchflusszytometer gemessen. Die Färbung ist spezifisch auf das CD8+ Kompartiment beschränkt. Durch In-vitro-Stimulation der Zellen mit rekombinantem α -NAC über 28 Tage erhöht sich die Frequenz von 0,5% auf 2,2%. **B.** Die Analyse mittels Chipcytometry ermöglicht eine Charakterisierung von α -NAC-spezifischen T-Zellen auf Einzelzell-Ebene. Wie hier beispielhaft dargestellt, tragen diese Tetramer+/CD8+ Zellen den Memory-T-Zell Oberflächenmarker CD45R0 und weisen durch Abwesenheit von CD27 einen terminalen Differenzierungsstatus auf. **C.** In Patienten mit atopischer Dermatitis ist die Frequenz spezifischer T-Zellen (hier nach Anreicherung über Microbeads) sowie die Frequenz terminal differenzierter Memory-T-Zellen (CD8+/CD45R0+/CD27-) bezogen auf die Gesamtheit der Memory-T-Zellen erhöht. Die MHC-Klasse-I-Tetramere wurden von der NIH Tetramer Core Facility hergestellt.

II) Anders als bei α -NAC konnte durch unsere vorangegangenen Arbeiten bezüglich humanem Thioredoxin (hTrx) bereits eine Kreuzreaktivität mit einem Umweltallergen, Mala s 13, direkt auf T-Zell-Ebene nachgewiesen werden. Wie zuletzt für α -NAC durchgeführt, wurden nun inflammatorische Effekte von Thioredoxin und Mala s 13 auf T-Zellen und Antigen-präsentierende Zellen von sensibilisierten AD-Patienten und nicht-atopischen Spendern untersucht. Hierbei zeigte sich, dass Zellen von beiden Spendergruppen ähnlich stark reagierten. Durch Thioredoxin und Mala s 13 wurde die Sekretion von Monozyten-Zytokinen wie IL-6 und IL-23 und von T-Zell-Zytokinen wie IFN- γ , IL-17, IL-22 und IL-13 ausgelöst. Ein interessanter und deutlicher, bislang noch nicht beschriebener Unterschied zwischen Patienten mit atopischer Dermatitis und Nicht-Atopikern fand sich in Hinblick auf die IL-10-Sekretion, die in Zellen von Patienten mit atopischer Dermatitis deutlich weniger durch Thioredoxin induziert wurde als in Zellen von Kontrollindividuen.

Thioredoxin und Mala s 13 beeinflussten auch die Signaltransduktion: Während beide Proteine zur Phosphorylierung von NF- κ B führten, war die Phosphorylierung von p-44/42 stärker in Thioredoxin-stimulierten, die Phosphorylierung von STAT3 hingegen stärker in Mala s 13-stimulierten PBMC nachweisbar.

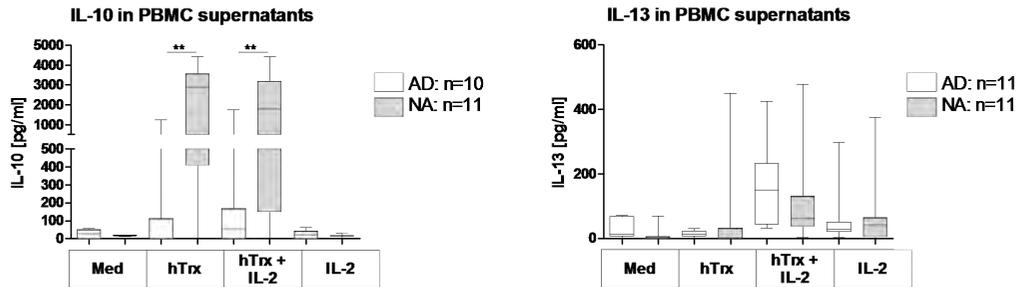


Abb. 2: Abb.2 PBMC Malassezia-sensibilisierter Patienten mit AD sowie nicht-allergischer Spender wurden für 72 h in An- und Abwesenheit von IL-2 mit hTrx stimuliert. In Zellkulturüberständen wurde die Menge an IL-10 und IL-13 mittels ELISA detektiert. **p<0,01.

Mit der Zielsetzung einer genaueren Analyse der Autoallergen-spezifischen T-Zellen führen wir derzeit ein Epitop-Mapping für Thioredoxin durch. Dafür wurden von Malassezia-sensibilisierten AD-Patienten T-Zelllinien in Anwesenheit von Thioredoxin angelegt und anschließend mit MHC-II-Peptiden, abgeleitet aus der Thioredoxin-Primärstruktur, restimuliert. So haben wir bereits zwei Kandidaten immundominanter Peptidsequenzen mit HLA-Allel-übergreifender Reaktivität für die Herstellung von MHC-Klasse II-Tetrameren identifiziert.

Zusammenfassend wurden die Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der „Autoallergie“ bei AD mit Fokussierung auf die Immunantwort auf α -NAC und hTrx fortgeführt. So konnten erstmals autoreaktive T-Lymphozyten mit Relevanz in atopischer Dermatitis mithilfe von MHC-Tetrameren detektiert und analysiert werden. Wie erwartet, ist eine erhöhte Frequenz der spezifischen T-Zellen in AD-Patienten gegenüber gesunden Spendern messbar. Eine vergleichende Untersuchung von direkten Effekten auf Zellen des peripheren Blutes durch das Autoallergen hTrx zeigte, dass in Patienten mit AD im Gegensatz zu gesunden Spendern eine signifikant verringerte Freisetzung eines anti-inflammatorischen Zytokins erfolgt. Weiterführende Experimente sollen in Zukunft durch den Einsatz weiterer MHC-Tetramere den Beitrag humaner Autoantigene und den korrespondierenden autoreaktiven T-Zellen in atopischer Dermatitis genauer beleuchten.

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Crameri, Reto (Prof. Dr.), Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF), Davos, Schweiz; Hansen, Gesine (Prof. Dr.), Klinik für pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie, MHH; Hennig, Christian (Dr.), Klinik für pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie, MHH; Kwok, William W. (Dr.), Benaroya Research Institute, Seattle, USA NIH Tetramer Core facility, Atlanta, USA; Scheynius, Annika (Prof. Dr.), Karolinska Institutet, Stockholm, Schweden; Valenta, Rudolf (Prof. Dr.), Medizinische Universität, Wien, Österreich; Förderung: DFG Klinische Forschergruppe 250 WE1289/8-1

Weitere Forschungsprojekte

Untersuchungen zur Rolle des Histamin-H4-Rezeptors im Vergleich zu anderen Rezeptoren bei allergischen Entzündungen der Haut

■ Projektleitung: Gutzmer, Ralf (Prof. Dr. med.), Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: DFG Gu434/5-2, EU (COST action BM0806, Recent advances in Histamine receptor H4R research)

Autoreaktive T-Lymphozyten bei atopischer Dermatitis

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: DFG, Klinische Forschergruppe 250, Teilprojekt 6: WE 1289/8-1 AOBJ: 579752

KMU-Innovativ-6: Entwicklung des Vorproduktes eines Therapeutikums zur effizienten kutanen Infektionsabwehr und Wundheilung durch die Kombination verschiedener humaner antimikrobieller Peptide

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMBF, Projektträger Jülich (ptj): 0315917B

Entwicklung eines medizinischen UV-Bestrahlungsgerätes mit Minimierung des Karzinomrisikos durch umfeldfreie Bestrahlung und mit automatischer Konturierung sowie genau definierbaren Dosen der Bestrahlungsfelder

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117402 FR9

Entwicklung eines digitalen Dermatoskopiegerätes mit erweitertem Diagnoseumfang für das automatisierte Ganzkörper-Hautkrebs-Screening (HKS)

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117405 FR1

Entwicklung eines neuen innovativen Medikaments zur Behandlung Th1-vermittelter chronisch entzündlicher Hauterkrankungen auf der Basis eines Tbet-spezifischen DNAzyms

■ Projektleitung: Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: BMWi, Projektträger Aif/ZIM Berlin: KF 2117403 FR0

Schulungsprogramm zur besseren Versorgung von Erwachsenen mit atopischer Dermatitis (Neurodermitis) - Nationale prospektive randomisierte Multizenterstudie

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.); Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Gieler, Uwe (Prof. Dr. med.), Justus-Liebig-Universität Gießen; Förderung: Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG)

Untersuchung der spezifischen T-Zell-Antwort auf Hausstaubmilbenallergene bei erwachsenen Patienten mit atopischer Dermatitis

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.); Förderung: MHH - HiLF

Untersuchungen des Effekts von Pollenexpositionen in einem Expositionsraum auf die Haut bei Patienten mit atopischer Dermatitis (Neurop)

■ Projektleitung: Heratizadeh, Annice (Dr. med.), Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Kooperationspartner: Hohlfeld, Jens (Prof. Dr. med.); Fraunhofer ITEM; Förderung: Wirtschaft

Impact of the TNF-alpha inhibitor Etanercept on TLR-2 and staphylococcal exotoxin induced immunological effects in monocytes/macrophages from patients with psoriasis

■ Projektleitung: Niebuhr, Margarete (Dr. med.); Werfel, Thomas (Prof. Dr. med.); Förderung: Wirtschaft

Publikationen siehe bei Klinik für Dermatologie, Allergologie u. Venerologie

Abstracts

2012 wurden 5 Abstracts publiziert.