

Arabinogalaktane aus Gräsern schützen vor der Entstehung von allergischen Erkrankungen*

M. Peters und A. Bufer

Abteilung für Experimentelle Pneumologie, Ruhr-Universität Bochum

Schlüsselwörter

Arabinogalaktan – Hygiene-Hypothese – Interleukin-10 – dendritische Zelle – allergische Immunantwort – Asthma

Key words

arabinogalactan – hygiene hypothesis – interleukine-10 – dendritic cell – allergic immune response – asthma

Arabinogalaktane aus Gräsern schützen vor der Entstehung von allergischen Erkrankungen

Allergien sind in den Industrienationen auf dem Vormarsch. Die Erkrankungen entstehen in einem noch nicht vollständig verstandenen komplizierten Zusammenspiel von genetischer Prädisposition und begünstigenden Umweltfaktoren. Allerdings gibt es auch Umweltfaktoren, die vor der Entstehung von Allergien schützen. So zum Beispiel die frühe Exposition zu inhalativen Stoffen aus traditionellen Bauernhöfen. Im Extrakt von Stäuben, die auf traditionellen Bauernhöfen gesammelt wurden, befinden sich Substanzen, die vor der Entstehung von allergischem Asthma im Mausmodell schützen. Dort sind eine Reihe von mikrobiellen Molekülen wie auch pflanzliche Substanzen nachweisbar. Nun konnten wir zeigen, dass eine dieser schützenden Substanzen ein pflanzliches Arabinogalaktan ist, das aus Gräsern isoliert werden kann. Diese Substanz schützt im Tiermodell vor allergischem Asthma. Ein bedeutender Mechanismus, wie diese Substanz den Schutzeffekt bewirkt, ist die Aktivierung der Interleukin-10-Produktion von dendritischen Zellen, die daraufhin nur eine gedämpfte allergische Immunantwort induzieren können. Da es erste Hinweise gibt, dass Arabinogalaktane auch das Verhalten von humanen dendritischen Zellen modulieren, glauben wir, dass diese Substanzgruppe einen pharmakologischen Ansatzpunkt zur Prophylaxe von allergischen Erkrankungen darstellen kann.

Arabinogalactan isolated from grass protects from allergic disease

The prevalence of allergic disease in industrialized countries is increasing. Allergies develop on the background of a genetic predisposition modulated by environmental factors. Although circumstances leading to aggravation or alleviation of allergic disease are not completely understood, epidemiological studies revealed an allergy protective effect of farm living and frequent contacts to cow-

sheds in early childhood. Cowshed dust contains a broad range of immune modulatory molecules. Microbial as well as molecules from plant origin are detectable in extracts, although microbial molecules only at low concentration. Interestingly, in a mouse model of asthma extracts from cowshed dust collected on traditional farms protect against the allergic disease. Now we were able to show that cowshed dust extract contains plant arabinogalactan. Similar to the whole extract these polysaccharides protect from allergic asthma in the murine model system. One mechanism responsible for protection is the modulation of dendritic cell function by arabinogalactan. After stimulation of cells with this polysaccharide, cells produce interleukin-10 leading to down-regulation of sensitization capacity of dendritic cells. Since we have evidence that arabinogalactan is also modulating the function of human dendritic cells we suggest that these polysaccharides may serve as a prophylactic treatment for allergic disease in human.

Aufwachsen auf dem Bauernhof schützt vor allergischen Erkrankungen

Erkrankungen wie die allergische Rhinokonjunktivitis (AR) und das Asthma bronchiale sind in westlichen Ländern weit verbreitet. Sie bedeuten für Millionen betroffener Menschen eine starke Einschränkung der Lebensqualität und eine große Belastung für das Gesundheitssystem. Die Prävalenz dieser Erkrankungen hat in den letzten 50 Jahren signifikant zugenommen. Neuere Untersuchungen zeigen, dass hierfür verschiedene exogene Faktoren verantwortlich sind, die sich vor dem Hintergrund einer genetischen Prädisposition ausprägen. So gibt es einen auffälligen Zusammenhang zwischen der

*Nach einem Vortrag anlässlich des 5. Deutschen Allergiekongresses, Hannover.

Abnahme von viralen und bakteriellen Infektionskrankheiten aufgrund von verbesserten Hygienebedingungen und besseren therapeutischen und prophylaktischen Möglichkeiten einerseits und der Zunahme von Autoimmunerkrankungen und Asthma bronchiale andererseits [2]. Weitere Faktoren, die mit der Zunahme von Allergien in einem assoziativen Zusammenhang stehen, sind die geringere Anzahl der Geschwister im Haushalt [11], passive Exposition mit Zigarettenrauch während der Schwangerschaft und ein hoher sozioökonomischer Status.

Das Vorhandensein von bestimmten Haustieren [22] oder Aufwachsen auf dem Bauernhof ist dagegen mit dem Schutz vor allergischen Erkrankungen assoziiert. So zeigte sich, dass regelmäßiger Stallkontakt während des ersten Lebensjahrs dazu führt, dass heranwachsende Kinder seltener an allergischem Asthma erkranken als Kinder, die keinen Stallkontakt hatten. Dies haben die epidemiologischen Untersuchungen der Alex-Study-Group eindeutig belegen können [4, 18]. Darüber hinaus scheint die Stärke des Schutzeffekts mit der Exposition gegenüber mikrobiellen Substanzen wie Lipopolysaccharid (LPS) und Muraminsäure im Staub der bäuerlichen Umgebung zu korrelieren [4, 23]. Auch in anderen Ländern wurde ein Zusammenhang von einer traditionellen bäuerlichen Lebensweise und dem Schutz vor allergischen Erkrankungen beobachtet. So zeigten Adler et al. [1], dass Kinder, die auf Bauernhöfen im US-Staat Wisconsin groß wurden und dort häufigen Stallkontakt hatten, seltener allergisches Asthma entwickelten als Kinder, die nicht auf Bauernhöfen aufgewachsen sind. Auch für Kinder in Norwegen [17] und in Australien [7] konnte der vor Allergien schützende sogenannte "Bauerneffekt" nachgewiesen werden.

Exposition mit hohen Konzentrationen von mikrobiellen Substanzen schützt vor der Entstehung von Allergien

Der Zusammenhang zwischen Stallexposition von Kindern und Schutz vor der Entstehung von Allergien ist somit epidemiologisch

eindrücklich belegt. Dass dieser Effekt in verschiedenen Ländern nachweisbar ist, zeigt auch, dass es sich bei den protektiven Substanzen nicht um lokal begrenzt vorkommende Stoffe handeln kann, sondern um Substanzen, die überregional in Ställen nachweisbar sein müssen. Für verschiedene Substanzen wie Lipopolysaccharid [4] und Muraminsäure [23] wurde schon gezeigt, dass die Konzentration dieser Substanzen im Staub der bäuerlichen Umgebung mit dem Grad der Allergie-Protektion korreliert. Da diese Substanzklassen Marker für bakterielle Belastung im Stallstaub sind, liegt es nahe zu vermuten, dass die beobachtete Allergie-Protektion durch bakterielle Kontamination im Stallstaub, der mit der Atemluft aufgenommen wird, bedingt ist.

Im Mausmodell wurde schon für verschiedene bakterielle Substanzen eine allergieprotektive Wirkung nachgewiesen. So konnte im Allergiemodell der Maus dokumentiert werden, dass Lipopolysaccharide, wenn sie während der Sensibilisierung gegeben werden, protektive Wirkung haben können [9]. Hierbei stellte sich in Untersuchungen von Eisenbarth et al. [8] heraus, dass die Dosis an LPS, die Mäusen inhalativ appliziert wird, von entscheidender Bedeutung für die Auswirkung auf die Sensibilisierung ist. Hohe Konzentrationen führten zu einer Th1-Immunantwort gegen das Allergen und damit zur Allergie-Protektion, geringe Dosen dagegen hatten eine Th2-Adjuvans-ähnliche Wirkung und verstärkten die Sensibilisierung. Wir konnten in unseren Untersuchungen zeigen, dass die geringe Menge an LPS, die im Stallstaub vorliegt, keine Allergie-Protektion im Tiermodell induziert [15].

Dass es neben Lipopolysaccharid im Stallstaub Substanzen gibt, die immunmodulierende Wirkung haben können, ist schon seit Langem bekannt. Diese Substanzen, die Spezies, in der die Wirksamkeit gezeigt wurde, sowie der Mechanismus der Protektion sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Allerdings können mikrobielle Substanzen im bäuerlichen Umfeld nur in geringen Konzentrationen nachgewiesen werden. Es ist daher wahrscheinlich, dass noch andere Substanzen nicht bakteriellen Ursprungs in Ställen vorhanden sein müssen, die einen schützenden Effekt vor Allergien induzieren können.

Tab. 1. Substanzen mit allergie-protectivem Potenzial.

Protective Substanz	Spezies	Mechanismus	Referenz
Lipopolysaccharid	Maus	Induktion allergenspezifischer Th1-Antwort	[9]
<i>Acinetobacter Iwoffii</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	Maus	Induktion Th1-Antwort	[6]
DNA aus <i>B. pertussis</i>	Maus	Induktion Th1-Antwort	[13]
Peptidoglycan	Maus		[24]
Synthetisches Lipopeptid	Maus	Induktion Th1-Antwort	[14]
<i>Mycobacterium vaccae</i>	Maus	Aktivierung regulatorischer T-Zellen	[27]

Tab. 2. Pflanzliche Kohlenhydrate mit immunstimulierendem Potenzial.

Spezies	Zuckerstruktur	Wirkung	Referenz
Engelwurz <i>Angelica acutiloba</i>	Saures Arabinogalaktan	Aktiviert klassischen Weg des Komplementsystems	[25]
<i>Atractylodes lancea</i>	Arabinogalaktan	Stimulation der Zellen von Peyer'schen Plaques	[26]
Sichelblättriges Hasenohr <i>Bupleurum falcatum</i>	Pektin mit Rhamnogalacturonankern	Stimuliert Produktion von IL-6, mitogene Wirkung auf B-Lymphozyten, Stimulation der Antikörperproduktion	[19]
Roter Sonnenhut <i>Echinacea purpurea</i>	Hochmolekulare Polysaccharidfraktion	Makrophagenaktivierung, mitogene Wirkung auf B-Lymphozyten	[20]
Europäische Lärche <i>Larix decidua</i>	Arabinogalaktan	Inhibition von Lebermetastasen durch Blockade von Hepatozyten-Lektinen.	[12]

Immunmodulatorische Eigenschaften von Pflanzenbestandteilen

Pflanzliche Produkte lassen sich in Ställen von bäuerlichen Betrieben in weitaus höherer Konzentration nachweisen als bakterielle Substanzen. Interessanterweise zeigt eine neuere Publikation von Sudre et al. [21], dass es einen epidemiologischen Zusammenhang zwischen der Pollenkonzentration in der Luft von Ställen und dem Schutz vor allergischen Erkrankungen gibt. In Pollen von Bäumen wie zum Beispiel Birke befinden sich Lipidmediatoren, für die eine Bedeutung bei der Allergie-Induktion diskutiert wird [10]. In

Gräserpollen, die überwiegend in Ställen von Bauernhöfen gefunden werden, befinden sich dagegen große Mengen an Arabinogalaktanen, die sich als immunmodulatorische Substanzen in der Diskussion befinden [5].

Arabinogalaktane sind pflanzliche Polysaccharide mit hohem Molekulargewicht, die überwiegend aus stark verzweigten Arabinose- und Galaktose-Ketten bestehen, daneben aber auch geringe Mengen anderer Pentosen und Hexosen enthalten [3].

Es gibt verschiedene Pflanzen, deren Extrakte immunmodulatorische Wirkungen nachgesagt werden. Allerdings ist bis heute in vielen Fällen noch unklar, welche Substanzen für die immunmodulatorische Wirkung verantwortlich sind. Unter den hochmolekularen

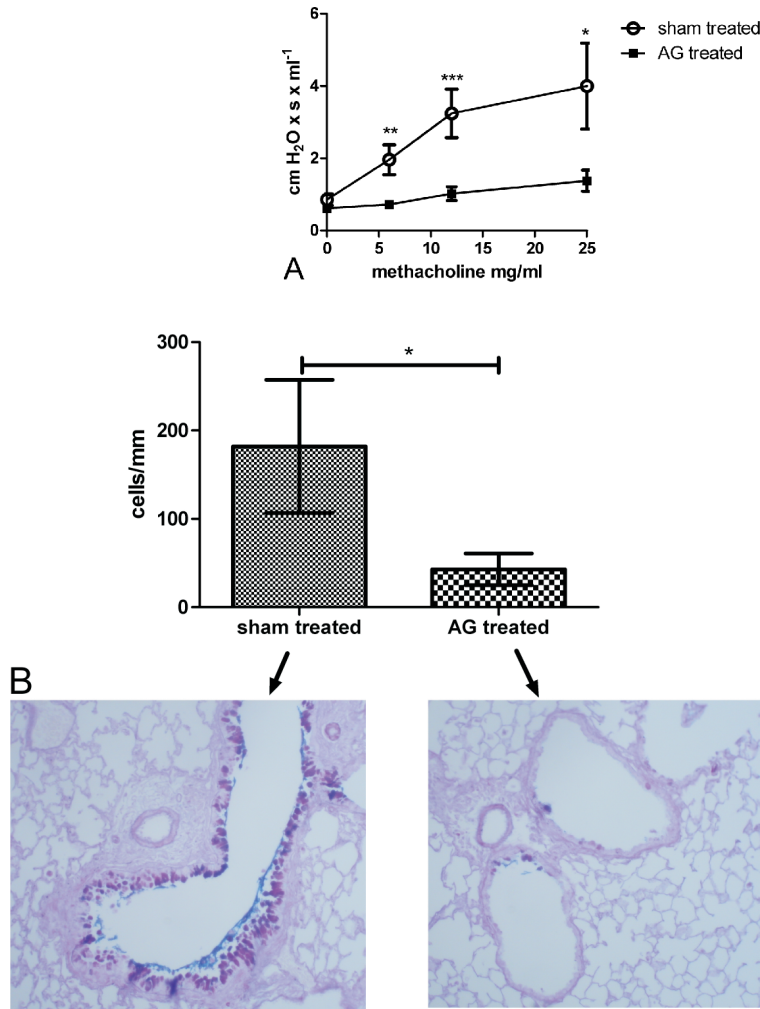


Abb. 1. Wirkung von Arabinogalaktan aus *Alopecurus pratensis* in einem Mausmodell für Asthma. Die Mäuse wurden durch intraperitoneale Injektion von Ovalbumin und Aluminiumhydroxid systemisch sensibilisiert. Anschließend wurden die Tiere mit Ovalbumin-Aerosol provoziert. Während der Sensibilisierung und Provokation wurden die Tiere insgesamt 14-mal mit je 5 g Arabinogalaktan behandelt. Anschließend wurde der Atemwegswiderstand der Tiere bei gleichzeitiger Methacholin-Provokation gemessen, um die Hyperreaktivität der Tiere zu ermitteln (A). Darüber hinaus wurde die Becherzellmetaplasie in den Atemwegen der Tiere histologisch mittels PAS/Alcian-Blau-Färbung untersucht (B) [16].

Komponenten der Extrakte wurden vor allem Polysaccharide als immunstimulierende Substanzen identifiziert. Pektinähnliche Polysaccharide, die Arabinogalaktane enthalten, zeigten antimetastatische, hypoglykämische und andere pharmakologische Wirkungen. In Tabelle 2 sind Polysaccharide aus verschiedenen Pflanzen dargestellt, denen eine Wirkung auf das Immunsystem zugesprochen wird.

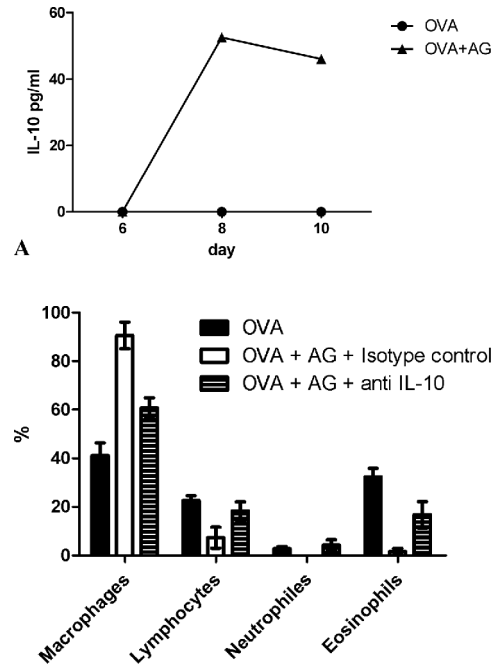


Abb. 2. Reaktion von dendritischen Zellen auf Arabinogalaktan. Dendritische Zellen wurden aus Stammzellen des Knochenmarks von Mäusen generiert, mit Allergen und Arabinogalaktan stimuliert und anschließend die Interleukin-10-Konzentration im Überstand der Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen (A). In einem zweiten Versuch wurden die mit Arabinogalaktan-behandelten Zellen nach Beladung mit Allergen verwendet, um Mäuse über die Atemwege zu sensibilisieren. Nach inhalativer Provokation der Mäuse mit dem Allergen wurde dann die Infiltration der Leukozyten in die Atemwege quantifiziert (B). Der schwarze Balken zeigt das Ergebnis für Mäuse, die mit allergenbeladenen DCs sensibilisiert wurden; hier ist eine deutliche Eosinophilie zu erkennen. Der weiße Balken zeigt das Ergebnis für Tiere, die mit OVA-beladenen Zellen sensibilisiert wurden, die zuvor mit Arabinogalaktan und einem nicht funktionellen Antikörper behandelt worden waren; hier sind die eosinophilen Granulozyten kaum nachweisbar. Der gestreifte Balken zeigt das Ergebnis für Tiere, die Zellen erhalten haben, die mit Arabinogalaktan behandelt worden waren, allerdings in der Anwesenheit eines IL-10-neutralisierenden Antikörpers; bei diesen Tieren ist die Eosinophilie teilweise wieder hergestellt [16].

Arabinogalaktane aus Pflanzen schützen vor allergischem Asthma

Vor Kurzem konnten wir nun belegen, dass Arabinogalaktane im Extrakt von Stäuben aus der allergieprotektiven bäuerlichen Umgebung bis zu 15% enthalten sind und dass diese Substanzen vor allergischem Asthma schützen können [16]. In weiteren Experi-

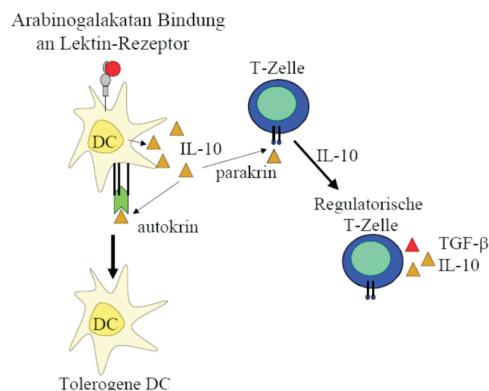


Abb. 3. Schematische Darstellung zur Wirkung von Arabinogalaktanen auf das Immunsystem. Gezeigt wurde bereits, dass durch die Produktion von Interleukin-10 (IL-10) der dendritischen Zelle (DC) die Entstehung einer Th2-Antwort unterdrückt wird. Dies könnte zum einen daran liegen, dass eine autokrine Wirkung auf die produzierende dendritische Zelle zu einer Toleranzbildung der Zelle führt (siehe auch Abb. 2). Es könnte aber auch durch parakrin produziertes IL-10 eine Bildung von regulatorischen T-Zellen gefördert werden, die dann wiederum die allergische Immunantwort mittels Produktion von IL-10 und TGF- β (Transforming Growth Factor- β) induziert.

menten zeigte sich, dass strukturidentische Arabinogalaktane aus Gräsern wie dem Wiesenfuchsschwanz (*Alopecurus pratensis*) isoliert werden können. Wenn diese Substanzen in einem Maus-Asthmamodelle während der Sensibilisierung gegeben werden, schützen sie vor der Entstehung von Atemwegshyperreagibilität und Becherzellmetaplasie, wie in Abbildung 1 gezeigt wird.

In weiteren Experimenten konnten wir dokumentieren, dass die Wirkung der Arabinogalaktane zum Teil über die Modulation der Biologie von dendritischen Zellen (DC) vermittelt wird. Diese Zellen produzieren nach Stimulation mit AG Interleukin-10, und die erhöhte Freisetzung dieses Zytokins resultiert in einer reduzierten Induktion einer Th2-Immunantwort gegen das Allergen. Dass die autokrine IL-10-Produktion für die Dämpfung der allergischen Immunantwort mitverantwortlich ist, konnten wir in einem Experiment zeigen, in welchem das autokrin produzierte antiinflammatorische Zytokin durch Verwendung eines Antikörpers neutralisiert wurde (Abb. 2).

Für die Modulation der immunologischen Funktion der DC wird wahrscheinlich die Bindung an einen spezifischen Lektinrezeptor

verantwortlich sein. Rezeptoren für Zuckerstrukturen rücken immer weiter in das Interesse der immunologischen Forschung. Eine Reihe von c-Typ-Lektinen wird auf dendritischen Zellen exprimiert. Diese Rezeptoren werden zum Beispiel von Mykobakterien verwendet. Die damit einhergehende Stimulation der Rezeptoren auf DC wird mit Interleukin-10-Produktion der Zellen in Verbindung gebracht und mit einer Toleranz des Immunsystems gegenüber dem Erreger.

Da in Arabinogalaktanen aus Gräsern Zucker gefunden wurden, die die gleiche Konfiguration aufweisen wie im Arabinomannan aus Mykobakterien [5], wäre es durchaus denkbar, dass pflanzliche Polysaccharide wie Arabinogalaktane die gleichen Rezeptoren binden wie ihre mikrobiellen Analoga und somit ähnliche immunmodulatorische Wirkungen zur Folge haben. Dies würde auch die beobachtete IL-10-Produktion erklären. Die immunologischen Vorgänge, die für die Schutzwirkung von Arabinogalaktanen verantwortlich sein können, sind in Abbildung 3 schematisch zusammengefasst (teilweise schon aufgeklärt, teilweise hypothetisch).

In vorhergehenden Experimenten konnten wir zeigen, dass Stallstaubextrakte, die reich an Arabinogalaktanen sind, auch auf humane DC eine immunmodulierende Wirkung haben [15]. Mit diesen Substanzen vorbehandelte DC können T-Zellen nur in geringem Maße zur Proliferation aktivieren. Erste Ergebnisse deuten darauf hin, dass dies auch für die isolierten Arabinogalaktane gilt.

Diese Beobachtungen und die Tatsache, dass Arabinogalaktane im Gegensatz zu mikrobiellen Substanzen keine proinflammatorische Wirkung haben, machen diese Substanzen zu einem äußerst interessanten Kandidaten für allergieprophylaktische Therapien. Diese Medikamente könnten zur Behandlung von Kindern eingesetzt werden, welche unbehandelt aufgrund ihrer genetischen Prädisposition mit hoher Wahrscheinlichkeit allergische Erkrankungen entwickeln würden.

Literatur

- [1] *Adler A et al.* Decreased prevalence of asthma among farm-reared children compared with those who are rural but not farm-reared. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; *115*: 67-73.
- [2] *Bach JF.* The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med.* 2002; *347*: 911-920.
- [3] *Bacic A et al.* Fine structure of the arabinogalactan-protein from *Lolium multiflorum*. *Carbohydrate Res.* 1987; *162*: 85-93.
- [4] *Braun-Fahrlander C et al.* Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *New Engl J Med.* 2002; *347*: 869-877.
- [5] *Brecker L et al.* Structural and immunological properties of arabinogalactan polysaccharides from pollen of timothy grass (*Phleum pratense* L.). *Carbohydrate Res.* 2005; *340*: 657-663.
- [6] *Debarry J et al.* *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; *119*: 1514-1521.
- [7] *Downs SH et al.* Having lived on a farm and protection against allergic diseases in Australia. *Clin Exp Allergy.* 2001; *31*: 570-575.
- [8] *Eisenbarth SC et al.* Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp. Med.* 2002; *196*: 1645-1651.
- [9] *Gerhold K et al.* Exposure to endotoxin and allergen in early life and its effect on allergen sensitization in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; *112*: 389-396.
- [10] *Gutermuth J et al.* Immunomodulatory effects of aqueous birch pollen extracts and phytoprostanes on primary immune responses in vivo. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; *120*: 293-299.
- [11] *Karmaus W, Botezan C.* Does a higher number of siblings protect against the development of allergy and asthma? A review. *J Epidemiol Community Health.* 2002; *56*: 209-217.
- [12] *Kelly GS.* Larch arabinogalactan: clinical relevance of a novel immune-enhancing polysaccharide. *Altern Med Rev.* 1999; *4*: 96-103.
- [13] *Kim YS et al.* Inhibition of murine allergic airway disease by *Bordetella pertussis*. *Immunology.* 2004; *112*: 624-630.
- [14] *Patel M et al.* TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. *J Immunol.* 2005; *174*: 7558-7563.
- [15] *Peters M et al.* Inhalation of stable dust extract prevents allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Thorax.* 2006; *61*: 134-139.
- [16] *Peters M et al.* Arabinogalactan isolated from cowshed dust extract protects mice from allergic airway inflammation and sensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; *126*: 648-656.
- [17] *Remes ST et al.* Which factors explain the lower prevalence of atopy amongst farmers children? *Clin Exp Allergy.* 2003; *33*: 409-411.
- [18] *Riedler J et al.* Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *The Lancet.* 2001; *358*: 1129-1133.
- [19] *Sakurai MH et al.* B-cell proliferation activity of pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of *Bupleurum falcatum* L. and its structural requirement. *Immunology.* 1999; *97*: 540-547.
- [20] *Stimpel M et al.* Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. *Infect Immun.* 1984; *46*: 845-849.
- [21] *Sudre B et al.* High levels of grass pollen inside European dairy farms: a role for the allergy-protective effects of environment? *Allergy.* 2009; *64*: 1068-1073.
- [22] *Svanes C et al.* Pet-keeping in childhood and adult asthma and hay fever: European community respiratory health survey. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; *112*: 263-264.
- [23] *van Strien RT et al.* Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; *113*: 860-867.
- [24] *Velasco G et al.* Toll-like receptor 4 or 2 agonists decrease allergic inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005; *32*: 218-224.
- [25] *Yamada H et al.* Structural characterisation of an anti-complementary arabinogalactan from the roots of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydr Res.* 1987; *159*: 275-291.
- [26] *Yu KW et al.* Intestinal immune system modulating polysaccharides from rhizomes of *Atractylodes lancea*. *Planta Med.* 1998; *64*: 714-719.
- [27] *Zuany-Amorim C et al.* Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen-specific regulatory T cells. *Nat Med.* 2002; *8*: 625-629 (2002).

Dr. rer. nat. M. Peters
Abteilung für Experimentelle Pneumologie
Ruhr-Universität Bochum
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
D-44789 Bochum
e-mail: marcus.peters@rub.de