

TLR7/8 reguliert die Signalwege von Typ 1 und 3 Interferonen bei
vom Rhinovirus 1b induziertem allergischen Asthma bronchiale

Der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades Dr. med.

vorgelegt von

Jasmin Dederl geb. Krug

**Als Dissertation genehmigt von der
Medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg**

Vorsitzender des Promotionsorgans: Prof. Dr. Markus F. Neurath

Gutachterin: Prof. Dr. Dr. Susetta Neurath-Finotto

Gutachter: Prof. Dr. Markus Neurath

Gutachter: Prof. Dr. Klaus Überla

Gutachter: Prof. Dr. Harald Renz

Tag der mündlichen Prüfung: 26. März 2024

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung
 - 1.1. Hintergrund
 - 1.2. Methoden
 - 1.3. Ergebnisse und Schlussfolgerungen
2. Einordnung in den fachwissenschaftlichen Kontext
 - 2.1. Einleitung
 - 2.1.1. Asthma bronchiale
 - 2.1.2. Rhinovirus und dessen Signalkaskade
 - 2.1.3. Interferone und deren Signalkaskade
 - 2.1.4. Interleukin-10 und dessen Signalkaskade
 - 2.1.5. Interleukin-27 und dessen Signalkaskade
 - 2.1.6. R848
 - 2.2. Ergebnisse
 - 2.3. Limitationen und kritische Betrachtung der Studienergebnisse
3. Originalpublikation
4. Literaturverzeichnis
5. Abkürzungsverzeichnis

1. Zusammenfassung

1.1. Hintergrund

Asthma bronchiale ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der Atemwege. Die Symptome variieren zeitlich und in ihrer Intensität. So gibt es leichte Verläufe mit rezidivierendem Husten oder Räsperzwang, aber auch schwere Verläufe mit lebensbedrohlicher Luftnot sowie Giemen, Brustenge und Husten. Die Genese des Asthma bronchiale ist multifaktoriell. T-Lymphozyten scheinen eine prominente Rolle in der Pathogenese von Asthma bronchiale zu haben, insbesondere die T-Helfer-Zellen und deren Zytokine Interleukin-4, Interleukin-5 und Interleukin-13. Insgesamt kommt es dann zu einer Hyperplasie der Becherzellen, einem Spasmus der glatten Muskulatur und zu einer eosinophilen Entzündungsreaktion. Die klassische Einteilung des Asthma bronchiale erfolgte in allergisches und nicht-allergisches Asthma. Diese Einteilung wurde in den letzten Jahren um weitere Phänotypen ergänzt, so wird nun unter anderem in Type-2-High-Asthma und Type-2-Low-Asthma unterschieden. Wiederholte virale Infekte könnten den sogenannten „immune shift“ zum Type-2-High Phänotypen begleiten und spielen eine wichtige Rolle bei Asthma Exazerbationen. Asthma Exazerbationen werden definiert als Zeiträume einer Abnahme der Lungenfunktion sowie einer progredienten Zunahme der Asthmasymptome. Eine Exazerbation kann lebensbedrohliche Zustände auslösen (R. Buhl 2017; Bundesärztekammer (BÄK) 2020).

Rhinovirus ist ein häufiger Auslöser von Infekten der oberen Atemwege und gehört zur Familie der Picornaviridae (Jacobs et al. 2013). Gelangt das Rhinovirus in eine Zelle, wird es von sogenannten Toll-like Rezeptoren, den Toll-like Rezeptoren (TLR) 7,8,9 und 3, erkannt (Thompson and Locarnini 2007). Dies führt zu einer Aktivierung von „myeloid differentiation primary response protein“ (MyD88) -abhängigen intrazellulären Signalkaskaden, welche zu einer Phosphorylierung des Interferonregulierenden Faktors (IRF) 7 und 3 und daraufhin zur Produktion von Interferon Typ I (Interferon-alpha und

Interferon-beta) und Interferon Typ III (Interferon-lambda) (Bergauer et al. 2017; Thompson and Locarnini 2007) führt. Interferon-alpha bindet dann den Interferon-alpha-Rezeptor, welcher aus 2 Transmembranglykoproteinen, Interferon-alpha-Rezeptor 1 und Interferon-alpha-Rezeptor 2 besteht (Platanias 2005). Interferon-lambda bindet an den sogenannten Interferon-lambda-Rezeptor, dieser besteht aus Interferon-lambda-Rezeptor-alpha und Interleukin-10-Rezeptor 2 (Sopel et al. 2017; Donnelly and Kotenko 2010). Die Bindung an diese Rezeptoren führt intrazellulär zu einer Aktivierung der Transkriptionsfaktoren „signal transducer and activator of transcription protein“ (STAT) 1 und STAT2. Die nun phosphorylierten STAT1 und STAT2 bilden mit IRF9 einen wichtigen Transkriptionskomplex, den sogenannten „IFN-stimulated gene factor 3“ (ISGF3) Komplex. Dieser Komplex translokiert in den Zellkern und bindet spezifische Elemente, die als IFN-stimulierte Antwortelemente (ISREs) bekannt sind. Diese führen dann zur Transkription IFN-stimulierter Gene (Platanias 2005).

Verschieden Studien zeigten eine fehlende oder reduzierte Interferon-alpha Antwort bei asthmatischen Kindern bei Virusinfektionen (Sykes et al. 2012; Wark et al. 2005; Edwards et al. 2013), allerdings konnte Bergauer et al. erhöhte Interferon-alpha Spiegel in der akuten Exazerbation nachweisen (Bergauer et al. 2017).

Ziel dieser Arbeit war es, die Effekte von Rhinovirus auf die 2 verschiedenen Rezeptoren (Interferon Typ I Rezeptor und Interferon Typ III Rezeptor), sowie den Einfluss von TLR7/8 Agonist (R848) auf die Regulation dieser Rezeptoren zu untersuchen.

1.2. Methoden

In dieser Arbeit wurden Interferon-alpha und Interferon-lambda sowie deren Rezeptoren in peripheren mononukleären Zellen (PBMC) sowie deren Überstände von Kindern mit und ohne Asthma bronchiale gemessen. Hierzu

wurden 2 Kohorten genutzt. Die Kohorte der europäischen PREDICTA (Post-infectious immune reprogramming and its association with persistence and chronicity of respiratory allergic disease) Studie umfasste Kinder im Alter von 4-6 Jahren. Die Kohorte der AGENDAS (Gender, age and environmental factors that modify immune-response and the development of allergic asthma during the school age in childhood) Studie schloss Kinder im Alter von 6-12 Jahren ein. Die Zellen wurden dann in vitro mit Rhinovirus 1b infiziert oder mit R848, einem Toll-like-Rezeptor 7 und 8 Agonisten, stimuliert. Zudem untersuchten wir murine Lungenzellen, welche ebenfalls in vitro mit Rhinovirus 1b infiziert oder mit R848 stimuliert wurden.

1.3. Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Es zeigte sich eine Induktion der mRNA von Interferon-lambda Rezeptor und eine Reduktion der mRNA von Interferon-alpha Rezeptor nach R848 Stimulation in den PBMC der untersuchten Kinder. Ebenso zeigte sich im murinen Versuchsaufbau eine verminderte Expression des Interferon-alpha Rezeptors auf der Oberfläche von T-Lymphozyten nach Rhinovirusinfektion und Rhinovirusinfektion und R848 Stimulation in vitro.

Die Induktion des Interferon-lambda Rezeptors durch R848 Stimulation in vitro könnte eine neue Möglichkeit der Induktion einer antiviralen Immunantwort in der Therapie des pädiatrischen Asthma bronchiale sein.

2.1. Einleitung

2.1.1. Asthma bronchiale

Asthma bronchiale ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, bei der es zu einer reversiblen bronchialen Obstruktion kommt. Die Symptome sind heterogen und reichen von chronischem Husten mit Räusperzwang bis zur Luftnot (Reddel et al. 2022; "Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary." E.D. Bateman, S.S. Hurd, P.J. Barnes, J. Bousquet, J.M. Drazen, J.M. FitzGerald, P. Gibson, K. Ohta, P. O'Byrne, S.E. Pedersen, E. Pizzichini, S.D. Sullivan, S.E. Wenzel and H.J. Zar. Eur Respir J 2008; 31: 143-178 2018). Die Prävalenz wird mit über 300 Millionen weltweit mit steigender Tendenz angegeben. Zudem ist Asthma bronchiale eine häufige chronische Erkrankung im Kindesalter. So sind in Deutschland fast 500.000 Kinder an Asthma bronchiale erkrankt. Etwa 6% aller Kinder zwischen 0 und 17 Jahren bekommen die ärztliche Diagnose Asthma bronchiale gestellt (Roma Thamm 2018).

Pathophysiologisch führen vier Mechanismen zu einer Atemflusslimitierung. Hierzu gehört ein neuromuskulär vermittelter Bronchospasmus, ein Schleimhautödem sowie entzündliche Schleimhautinfiltrationen mit Verdickung der Basalmembran und Hyperplasie der Becherzellen, ein Remodeling der Bronchialwände mit Hypertrophie der glatten Muskulatur und somit eine Verdickung der Atemwegswände und eine vermehrte Produktion zähen Sekrets (R. Buhl 2017).

Es gibt verschiedene Faktoren, welche den Schweregrad und die Entwicklung des Asthma bronchiale beeinflussen können. Diese werden in endogene und exogene Faktoren eingeteilt. Zu den endogenen Faktoren gehören beispielsweise eine genetische Veranlagung, das Körpergewicht, das

Geschlecht oder psychischer Stress, während zu den exogenen Faktoren Allergene, Infektionen oder Tabakrauchexposition zählen (R. Buhl 2017).

Asthma bronchiale wird in verschiedene Unterformen, den sogenannten Phänotypen, eingeteilt. So wird zwischen allergischem und nicht-allergischem Asthma unterschieden. Des Weiteren gibt es die anstrengungsinduzierte Bronchokonstriktion, das Analgetika-Asthma, das GERD-assoziierte Asthma und das eosinophile Asthma bronchiale (R. Buhl 2017).

Die Klassifizierung in verschiedene Subtypen ist aufgrund der multifaktoriellen Ursache als fließend anzusehen (R. Buhl 2017).

Vor allem bei allergischem Asthma bronchiale zeigte sich ein Ungleichgewicht in der T-Helfer Zell Typ 1 (Th1) und Th2 Antwort, wodurch eine überschießende Reaktion auf ein harmloses Antigen ausgelöst wird. Th2-Zellen produzieren vor allem Zytokine wie Interleukin-4, Interleukin-5 und Interleukin-13 (Caminati et al. 2018; Strickland and Holt 2011; Holt et al. 2005).

Neuere Erkenntnisse zeigen jedoch, dass Asthma bronchiale ein deutlich komplexeres Syndrom ist, welchem unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen unterliegen, was zu unterschiedlichen klinischen Ausprägungen führt. So konnte gezeigt werden, dass auch andere Immunzellen wie basophile Granulozyten, Mastzellen und sog. angeborene lymphatische Zellen Typ 2 (ILC2s) Th2-assoziierte Zytokine produzieren (Lambrecht et al. 2019), so dass eine Unterteilung in die Endotypen „type-2-high“ Asthma und „type-2-low“ Asthma erfolgte (R. Buhl 2017). Type-2-high Asthma ist deutlich besser untersucht und ist oft durch eine allergische Sensibilisierung und durch eine Exposition inhalativer Allergene durch allergenspezifische CD4+Th2 Zellen verursacht und zeigt hohe allergenspezifische IgE-Werte im Serum (Lambrecht et al. 2019).

Allerdings gehört nur etwa die Hälfte der Asthmapatienten zur Type-2-high Gruppe. Bisher konnten keine Biomarker für die Type-2-low Gruppe festgestellt werden, so dass die Type-2-low Gruppe alle Asthmapatienten einschließt, die keine Type-2-high Entzündung zeigen (Hammad and Lambrecht 2021). Der Type-2-low Endotyp ist häufig mit Übergewicht, der Präsenz von Neutrophilen und einem ungenügenden Ansprechen auf Glucocorticoide vergesellschaftet (Hammad and Lambrecht 2021).

Rhinovirusinfektionen führen zu einem zytotoxischen Effekt auf bronchiale Epithelzellen, welche die Entstehungswahrscheinlichkeit von Asthma bronchiale erhöhen könnte (Krammer et al. 2021).

Die Epithelzellen der Atemwege fungieren als Trennschicht zwischen der Außen- und Innenwelt des Körpers. Zur Abwehrfunktion tragen sie Zilien, welche Pathogene durch den sogenannten „mucociliary escalator“ mittels Zilienbewegung entfernen (Whitsett 2018), dies wird mukoziliäre Reinigung genannt (Lüllmann-Rauch 2009). Die Epithelzellen stehen durch Zellkontakte in Verbindung. Diese Verbindungen werden „apical junction complex“ genannt und bestehen aus sogenannten Tight Junctions, auch Barrierekontakte genannt, und Adhäsionskontakten (Gon and Hashimoto 2018). Die Barrierekontakte befinden sich im apikalen Bereich der Epithelzellen und bestehen aus den Membranproteinen Claudin und Occludin. Sie verschließen den Zellzwischenraum und wirken so als Diffusionsbarriere. Die Adhäsionskontakte führen zu einer mechanischen Verbindung von Zellen. Sie bestehen aus Cadherin und Catenin (Hartsock and Nelson 2008). Bei Patienten mit Asthma bronchiale wurde eine Dysfunktion dieser Zellkontakte festgestellt. Diese Störung kann zum Beispiel durch Rhinoviren ausgelöst werden. Aufgrund dieser Dysfunktion gelangen Pathogene in die Submukosa und verursachen dort die oben genannten Entzündungsreaktionen (Gon and Hashimoto 2018).

Eine Exazerbation des Asthma bronchiale zeichnet sich durch eine akute Symptomzunahme sowie ggf. Abnahme der Lungenfunktion aus. Eine schwere Exazerbation kann im Rahmen eines Asthmaanfalls oder eines Status asthmaticus lebensgefährlich werden (Bundesärztekammer (BÄK) 2020; R. Buhl 2017). Die Symptome treten insbesondere nachts und frühmorgens auf und zeigen häufig einen episodenhaften Verlauf. Sie können beispielsweise durch körperliche Anstrengungen, saisonal auftretende Allergene oder aber auch durch Infekte, insbesondere der oberen Atemwege, ausgelöst werden (Corne et al. 2002; R. Buhl 2017). Ein häufiger Erreger ist hierbei das Rhinovirus welches zur Picornaviridae Familie gehört (Jacobs et al. 2013). Experimentelle Rhinovirusinfektionen bei Asthmapatienten führten zu einer erhöhten Allergenantwort, vermehrten Symptomen der oberen und unteren Atemwege und zu einer erhöhten Hyperreagibilität der Atemwege (Zhu et al. 2019).

Die Diagnosestellung des Asthma bronchiale erfolgt vor allem klinisch. Wichtig ist hierbei eine ausführliche Anamnese (R. Buhl 2017; Bundesärztekammer (BÄK) 2020). Mithilfe einer Lungenfunktionsprüfung kann eine variable, häufig reversible Atemwegsobstruktion oder eine bronchiale Hyperreagibilität nachgewiesen werden. Zeigt sich in der Lungenfunktionsprüfung eine Atemwegsobstruktion, so wird dem Patienten zum Nachweis der Reversibilität ein kurzwirksames Beta-2-Sympathomimetikum verabreicht und im Anschluss eine erneute Lungenfunktionsprüfung durchgeführt (Bundesärztekammer (BÄK) 2020; R. Buhl 2017). Sofern sich keine eingeschränkte Lungenfunktion zeigt, sollte bei begründetem Verdacht auf ein Asthma bronchiale die Diagnose durch den Nachweis einer unspezifischen bronchialen Hyperreagibilität, z. B. durch eine unspezifische inhalative Provokation mit Pharmaka, erhärtet werden (R. Buhl 2017; Bundesärztekammer (BÄK) 2020).

Die Klassifikation des Asthma bronchiale erfolgt anhand der Symptomkontrolle, so wird zwischen kontrolliertem Asthma, teilweise kontrolliertem Asthma und unkontrolliertem Asthma unterschieden (Bundesärztekammer (BÄK) 2020; R. Buhl 2017).

Die medikamentöse Therapie unterteilt sich in eine Bedarfs- und Langzeittherapie und richtet sich nach einem Stufenschema. Gängige Medikamente sind hierbei kurz- und langwirksame Beta-2-Sympathomimetika, inhalative Corticosteroide sowie langwirksame Muscarinrezeptorantagonisten. Zur Therapieeskalation stehen orale Corticosteroide, verschiedene Biologicals und Leukotrien-Rezeptor-Antagonisten zur Verfügung (R. Buhl 2017; Bundesärztekammer (BÄK) 2020).

2.1.2. Rhinovirus und dessen Signalkaskade

Rhinoviren gehören, wie oben genannt, zur Picornaviridae Familie und führen üblicherweise zu einer Infektion der oberen Atemwege, was sich als typische Erkältung äußert (Jacobs et al. 2013).

Mehr als 90% der bekannten Rhinovirus Serotypen gehören zur sogenannten „major group“. Diese Gruppe nutzt den Oberflächenrezeptor ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), um in die Zelle zu gelangen. Die sogenannte „minor group“ gelangt über die LDL-Rezeptoren (low-density lipoprotein) in die Zellen. (Jacobs et al. 2013)

Die verschiedenen Serotypen sind Rhinovirus A, Rhinovirus B und Rhinovirus C (Jacobs et al. 2013; Bochkov et al. 2015). Rhinovirus 1b gehört zur „minor group“ und zum Serotyp Rhinovirus A und gelangt demnach über LDL-Rezeptoren in die Zellen (Newcomb et al. 2008).

In der Zelle wird das Virus von intrazellulären Toll-like Rezeptoren (TLR 7, 8, 9, 3) erkannt, diese Toll-like Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle in der Einleitung einer antiinfektiösen Immunantwort (Thompson and Locarnini 2007).

Toll-like Rezeptor 7 und 8 sind endosomale Rezeptoren, die virale „singlestranded“ RNA erkennen und zu einer Aktivierung von „myeloid differentiation primary response protein“ (MyD88) -abhängigen intrazellulären Signalkaskade führen (Thompson and Locarnini 2007). Daraufhin werden proinflammatorische Zytokine, wie Interferon Typ I (IFN-alpha und IFN-beta) und Interferon Typ III (IFN-lambda), produziert, welche die angeborene antivirale Immunantwort vermitteln (Thompson and Locarnini 2007; Bergauer et al. 2017).

2.1.3. Interferone und deren Signalkaskade

Es gibt 3 Typen von Interferonen: Typ I, Typ II und Typ III (Platanias 2005; Pestka et al. 2004). Typ I Interferone, wie Interferon-alpha und Interferon-beta, binden an den sogenannten Typ I Interferon Rezeptor. Dieser besteht aus 2 Glykoproteinen, IFN-alpha Rezeptor 1 (IFNAR1) und Interferon-alpha Rezeptor 2 (IFNAR2). Die Bindung führt durch IFNAR1 zu einer Autophosphorylierung und Aktivierung der Tyrosin Kinase 2 (TYK2), während IFNAR2 eine Autophosphorylierung und Aktivierung der Janus Kinase 1 (JAK1) bewirkt (Platanias 2005). Dies führt zu einer Phosphorylierung und somit Aktivierung der Transkriptionsfaktoren „signal transducer and activator of transcription protein“ (STAT) 1 und STAT2. Die nun phosphorylierten STAT1 und STAT2 bilden mit IRF9 einen wichtigen Transkriptionskomplex, den sogenannten „IFN-stimulated gene factor 3“ (ISGF3) Komplex. Dieser Komplex translokiert in den Zellkern und bindet spezifische Elemente, die als IFN-stimulierte Antwortelemente (ISREs) bekannt sind. Diese führen dann zur Transkription IFN-stimulierter Gene (Platanias 2005).

Typ III Interferone, wie Interferon-lambda, binden hingegen an einen Rezeptorkomplex bestehend aus IFN-lambda-Rezeptor 1 und Interleukin-10-Rezeptor 2 (Sopel et al. 2017; Donnelly and Kotenko 2010), führen jedoch zur gleichen intrazellulären Signalkaskade. Insgesamt ist die Immunantwort durch

Typ III Interferon allerdings begrenzt, da der IFN-III-Rezeptor auf weniger Zellen exprimiert ist als der IFN-I-Rezeptor (Sopel et al. 2017; Sommereyns et al. 2008; Mordstein et al. 2010).

Interferon-gamma gehört zum Typ II Interferon und bindet einen Rezeptorkomplex, der sich ebenfalls aus zwei Glykoproteinen zusammensetzt: dem Interferon-gamma-Rezeptor 1 und dem Interferon-gamma-Rezeptor 2. IFN-gamma-Rezeptor 2 (IFNGR2) ist hierbei der limitierende Faktor der Interferon-gamma Antwort, da dessen Expression streng reguliert und abhängig vom Status der zellulären Differenzierung und Aktivierung ist. Letztendlich führt Interferon-gamma durch diese unterschiedliche Rezeptorexpression zu einer Suppression der Th2-Zellen. Die Bindung von Interferon-gamma an dessen Rezeptor führt zu einer Autophosphorylierung und Aktivierung von JAK2, die dann zu einer Transphosphorylierung von JAK1 führt. Dies führt zu einer Phosphorylierung und Homodimerbildung von STAT1. Dieses Homodimer gelangt dann in den Zellkern und bindet Promoterregionen und führt so zu einer Initiierung oder Unterdrückung von Interferon-regulierten Genen (Schroder et al. 2004).

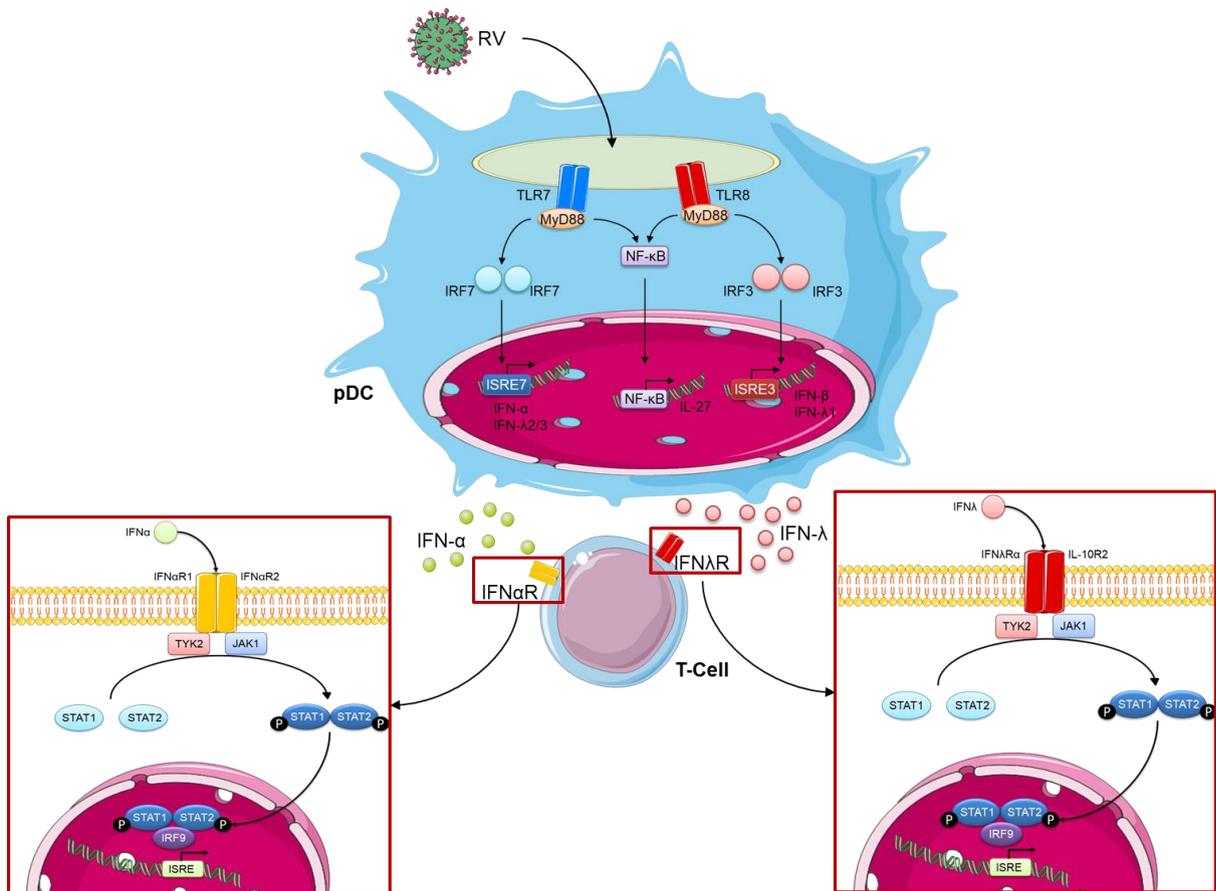


Abb. 1 Signalwege von Interferon-alpha und Interferon-lambda (Krug et al. 2021)

2.1.4. Interleukin-10 und dessen Signalkaskade

Interleukin-10 ist ein antiinflammatorisch wirksames Zytokin und bindet an den Interleukin-10 Rezeptor. Dieser befindet sich vor allem auf Makrophagen und Monozyten und besteht aus Interleukin-10-Rezeptor 1 und Interleukin-10-Rezeptor 2 (Zdrengeha et al. 2015; Saraiva et al. 2020).

Interleukin-10 führt zu einer Reduktion der Aktivität von entzündungsfördernden Zellen (Ogawa et al. 2008). So erkennen zum Beispiel Makrophagen virale Infektionen der Lungenepithelzellen und produzieren Interferone und proinflammatorische Mediatoren. Später produzieren die Makrophagen

Interleukin-10, das zu einem inhibitorischen Feed-back Loop führt und so die Aktivität von Makrophagen und die Produktion von inflammatorischen Zytokinen reduziert und dadurch die Gewebsschädigung limitiert. Die zeitliche Ausschüttung von Interferonen und Interleukin-10 scheint also für eine effektive antivirale Immunantwort entscheidend zu sein (Zdrengea et al. 2015).

Es wurde bereits gezeigt, dass Interleukin-10 bei asthmatischen Patienten bereits vor einer Virusinfektion erhöht ist und somit die initiale Immunantwort durch Interferonbildung bei einer Rhinovirusinfektion gestört sein könnte (Zdrengea et al. 2015).

2.1.5. Interleukin-27 und dessen Signalkaskade

Interleukin-27 gehört zur Interleukin-12 Familie und wird vor allem von aktivierten antigenpräsentierenden Zellen wie Makrophagen und dendritischen Zellen gebildet.

Bei Asthma bronchiale scheint Interleukin-27 sowohl eine pro- sowie antiinflammatorische Rolle zu übernehmen (Jafarzadeh et al. 2021). Interleukin-27 aktiviert STAT1 und führt dadurch zu einer Th1-Zell Differenzierung sowie zu einer Reduktion der Th2-Zell Differenzierung und spielt somit eine Rolle bei der Entstehung von Asthma bronchiale. Im Mausmodell konnte jedoch keine Verbesserung der Entzündungsreaktion durch therapeutische Interleukin-27 Gaben gezeigt werden (Lu et al. 2022). Allerdings zeigten Jirno et al., dass Interleukin-27 essentiell für die suppressive Wirkung von R848 bei allergischem Asthma sei (Jirno et al. 2016).

2.1.6. R848

R848, auch Resiquimod genannt, fungiert bei Mäusen als TLR7-Agonist (Hemmi et al. 2002) und beim Menschen als TLR7 und TLR8 Agonist (Jurk et al. 2002). TLR7, TLR8 und deren Liganden führen zu einer Produktion von Typ I Interferonen und Th1-typischen Zytokine wie Interleukin-12, als auch zu einer Hemmung der Th2-getriggerten Entzündungsantwort (Jirmo et al. 2016). So konnten Studien in vitro und im Tiermodell einen präventiven Effekt von R848 auf Asthma bronchiale zeigen (Camateros et al. 2009; Wagner et al. 1999; Jirmo et al. 2016).

2.2. Ergebnisse

Menschen, die unter Asthma bronchiale leiden, scheinen einen Defekt in der Typ I Interferonantwort zu haben (Sykes et al. 2012; Wark et al. 2005; Edwards et al. 2013). Sykes et al. infizierten mononukleäre Blutzellen und Zellen aus der bronchoalveolären Lavage mit Rhinovirus ex vivo von gesunden Probanden und Probanden mit Asthma bronchiale. Sie zeigten, dass die Induktion von Typ I Interferonen nach Rhinovirusinfektion bei asthmatischen Probanden in den Zellen der BAL verspätet und mangelhaft war und dies mit einer höheren Hyperreaktivität der Atemwege assoziiert war (Sykes et al. 2012). Ebenso konnte Wark et al. eine verminderte Interferon-beta-Antwort nach Rhinovirusinfektion zeigen (Wark et al. 2005). Insgesamt gibt es jedoch verschiedene Studienergebnisse in Bezug auf Interferone nach Rhinovirusinfektion. So zeigte Bergauer et al. erhöhte Interferon-alpha-Spiegel nach Rhinovirusinfektion in vivo (Bergauer et al. 2017).

Da, wie oben beschrieben, auch Interferon-lambda zu einer antiviralen Immunantwort führt, wurden bereits mehrere Studien in dieser Richtung durchgeführt. Hierbei zeigten sich erhöhte Interferon-lambda-Spiegel nach Virusinfektionen bei Kindern, welche unter Asthma bronchiale leiden (Sopel et al. 2017; Custovic et al. 2018; Hansel et al. 2017; Bergauer et al. 2017).

Zur weiteren Aufklärung der antiviralen Immunantwort und deren Beeinflussbarkeit bei asthmatischen Kindern untersuchten wir Interferon-alpha und Interferon-lambda, sowie die Expression der Typ-I-Interferon-Rezeptoren sowie der Typ-III-Interferon-Rezeptoren. Zudem behandelten wir Zellen mit R848, einem TLR7 und TLR8 Agonisten, um die Beeinflussbarkeit der Interferonantworten und der Expressionen der Interferonrezeptoren zu untersuchen.

Hierzu nutzten wir periphere mononukleäre Zelle (PBMC) von Kindern mit und ohne Asthma bronchiale aus zwei verschiedenen Kohorten. Die Kohorte der

europäischen PREDICTA (Post-infectious immune reprogramming and its association with persistence and chronicity of respiratory allergic disease) Studie umfasste Kinder des „Work Package 1“ im Alter von 4-6 Jahren. Die Kinder wurden zum Zeitpunkt der Rekrutierung und 2 Jahre später untersucht.

Die Kohorte der AGENDAS (Gender, age and environmental factors that modify immune-response and the development of allergic asthma during the school age in childhood) Studie schloss Kinder im Alter von 6-12 Jahren ein. Die Studien wurden in Zusammenarbeit mit der pädiatrischen Abteilung des Universitätsklinikums Erlangen durchgeführt.

Die PBMC wurden in vitro mit Rhinovirus 1b infiziert oder mit R848 behandelt. Danach wurde der Überstand der Zellen entnommen und die RNA aus den Zellen extrahiert und cDNA synthetisiert. Die cDNA wurde dann mithilfe von Real-Time PCR analysiert. Die Überstände der PBMC der PREDICTA Kohorte wurden in Turko mittels Multiplex-Analyse untersucht. Für die restlichen Zellüberstände nutzten wir ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Außerdem isolierten wir murine Lungenzellen von 9 Wochen alten Mäusen und infizierten diese ebenso mit Rhinovirus 1b oder behandelten sie mit R848. Ein Teil der Zellen wurde sowohl mit Rhinovirus 1b infiziert, als auch mit R848 behandelt. Nach 24 Stunden wurden die Überstände abgenommen und RNA aus den Zellen gewonnen und schließlich cDNA synthetisiert. Vorteil der murinen Lungenzellen war zudem die Möglichkeit der fluoreszenzaktivierten Zellanalyse (FACS-Analyse), mit der die Oberflächenmoleküle und somit die Rezeptoren gemessen werden konnten. Hierzu wurden die kultivierten Lungenzellen geerntet und gewaschen und mit an Fluorchrom konjugierten anti-CD4, anti-CD8, anti-CD25, anti-Foxp3 und anti-IFNAR1 Antikörper gefärbt. Die Fluoreszenz-markierten Zellen wurden dann durch fluoreszenzaktivierte Zell-Sortierung gemessen und mit FlowJo analysiert.

In den Überständen der PBMC der Predicta Kohorte zeigten sich nach in vitro Rhinovirusinfektion keine signifikanten Unterschiede in den IFN-alpha, IFN-

lambda, IL-10 und IL-27 Spiegel. Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der RNA-Expression der IFN-alpha- und Interferon-lambda-Rezeptoren. Es zeigte sich allerdings ein signifikanter Anstieg von Interferon-gamma nach Rhinovirusinfektion, sowohl bei den gesunden Kindern als auch den Kindern welche an Asthma bronchiale leiden.

Auf den murinen Lymphozyten aus den isolierten Lungenzellen zeigte sich nach Rhinovirusinfektion in vitro eine Reduktion des Interferon-alpha-Rezeptors. Es konnte bereits gezeigt werden, dass das Hepatitis-C-Virus und das Vesicular stomatitis Virus zu einer Reduktion des Interferon-alpha-Rezeptors führen und somit der initialen Immunantwort entkommen (Liu et al. 2009; Ivashkiv and Donlin 2014), so dass es möglich ist, dass das Rhinovirus durch Destabilisierung und verminderter Produktion von Interferon-alpha sowie durch Herabregulierung des Interferon-alpha-Rezeptors dem Immunsystem entkommt.

Allerdings muss angemerkt werden, dass zur besseren Vergleichbarkeit sowohl humane als auch murine Zellen mit Rhinovirus 1b infiziert wurden. Erneute Studien und Versuche mit z. B. Rhinovirus C, einem major group Rhinovirus, sind hier nötig, da in Studien bereits gezeigt werden konnte, dass Rhinovirus C Infektionen bei Asthmapatienten mit einem höheren Risiko einer stationären Krankenhausaufnahme assoziiert waren (Cox et al. 2013; Miller et al. 2009).

Die R848 Stimulation führte in den Zellüberständen der PBMC der PREDICTA Kohorte zu einem erhöhten Interferon-alpha Spiegel. Diese R848 Stimulation führte jedoch auch zu einer Reduktion der Interferon-alpha-Rezeptor RNA, so dass dieser Effekt limitiert zu sein scheint. Es ist möglich, dass die erhöhten IFN-alpha Spiegel durch die reduzierten Interferon-alpha-Rezeptoren zu erklären sind und somit die antivirale Immunantwort nicht beeinflusst wird. In den murinen Lungenzellen zeigte sich in der FACS-Analyse ebenfalls eine Abnahme der IFN-alpha-Rezeptoren nach Rhinovirusinfektion und R848-

Behandlung auf den Zelloberflächen von Lymphozyten, insbesondere auf CD4+ und CD8+ Lymphozyten. Allerdings zeigte sich auch ein erniedrigter Interferon-alpha-Spiegel in den Überständen.

2003 wurde Interferon-lambda, welches auch als Interleukin-28 und Interleukin-29 bekannt ist, als Typ III Interferon entdeckt (Donnelly and Kotenko 2010). Bei Menschen mit Asthma bronchiale wurde beobachtet, dass Interferon-lambda zu einer verminderten Produktion von IL-4, IL-5 und IL-13 führt und somit eine protektive Funktion einnehmen könnte (Krammer et al. 2021). Die Studie von Hansel et al. zeigte stark erhöhte Interferon-lambda-Spiegel in den oberen Atemwegen nach Rhinovirusinfektion bei asthmatischen Probanden im Vergleich zu gesunden Probanden (Hansel et al. 2017). Die Spiegel erreichten ihren Höhepunkt zum Zeitpunkt der maximalen Rhinovirusdetektion. Baraldo et al. zeigte bei Kindern mit Asthma bronchiale reduzierte Interferon-lambda-Spiegel verglichen mit gesunden Kindern. Gleichzeitig zeigten sich bei den asthmatischen Kindern deutlich höhere Rhinovirusbelastungen (Baraldo et al. 2012). Insgesamt sind die verschiedenen Studienergebnisse jedoch aufgrund unterschiedlicher Methodik schlecht vergleichbar.

Bei asthmatischen Kindern der PREDICTA-Kohorte mit einer Rhinovirusinfektion in vivo wurden bereits erhöhte IFN-lambda-Spiegel gezeigt (Bergauer et al. 2017).

Bei den Grundschulkindern (AGENDAS-Kohorte) zeigten sich bei den asthmatischen Kindern insgesamt höhere Interferon-alpha- und Interferon-lambda-Spiegel sowie eine erhöhte Expression der Interferon-lambda-Rezeptor RNA, als bei den gesunden Kindern, was auf eine Aktivierung des Interferon-lambda Signalweges hindeuten könnte. Durch einen nasopharyngealen Abstrich wurden die Kinder auf eine Rhinovirusinfektion in vivo untersucht. 33,3% der asthmatischen Kinder waren positiv, während keins der gesunden Kinder einen positiven Rhinovirusnachweis hatte. Die Rhinovirusinfektionen in

vivo könnten die erhöhten Interferon-alpha- und Interferon-lambda-Spiegel sowie die erhöhte Expression der Interferon-lambda-Rezeptor RNA erklären.

Aufgrund dieser Ergebnisse untersuchten wir die Effekte einer R848-Behandlung auf Interferon-lambda und dessen Rezeptor.

In den PBMC der PREDICTA Kohorte zeigte sich nach R848 Behandlung eine Reduktion der IFN-lambda-Spiegel, jedoch zeigte sich ebenso eine Induktion der IFN-lambda-Rezeptor RNA. Diese Ergebnisse könnten auf eine kompensatorische Reduktion der Zytokinproduktion hinweisen, oder Folge einer hohen Bindung des Interferon-lambdas an dessen Rezeptor sein.

R848 stimulierte in den Überständen der PBMC der PREDICTA-Kohorte ebenso die Bildung von Interleukin-10 und Interleukin-27.

Jirno et al. zeigte, dass IL-27 essentiell für die suppressive Wirkung von R848 auf experimentelles allergisches Asthma ist. Sie zeigten außerdem, dass IL-27 die Bildung von Interferon-gamma stimulierte, während es die Bildung von IL-5 und IL-13 reduzierte, so dass IL-27 einen direkten Einfluss auf die Th-2-Antwort zu haben scheint (Jirno et al. 2016).

In den Überständen der PBMC der PREDICTA Kohorte zeigten sich, passend zu den Ergebnissen von Jirno et al., nach R848 Behandlung ebenfalls erhöhte Interferon-gamma-Spiegel.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass durch den TLR7 und TLR8 Agonisten R848 die Interferon-alpha Rezeptor Expression in den untersuchten PBMC sowie auf der Oberfläche der murinen Lungenzellen reduziert wurde. Die Ergebnisse weisen auf eine wichtige Rolle des Interferon-lambda Signalweges für die Beseitigung von Rhinovirus 1b Infektionen bei asthmatischen Kindern hin. Ebenso konnten wir zeigen, dass dieser Interferon-lambda Signalweg durch R848 stimuliert werden kann. Diese Ergebnisse könnten die Grundlage für neue Therapien für Asthma bronchiale bei Kindern sein. Es ist nicht bekannt, in wieweit sich die Ergebnisse auch auf andere Virusinfektionen der Atemwege

ausweiten lassen. So wurde durch Mordstein et al. bereits die wichtige Rolle des Interferon-lambda Rezeptors bei RSV (Respiratory Syncytial Virus) und Sars-CoV (Severe acute respiratory syndrome coronavirus) Infektionen gezeigt (Mordstein et al. 2010).

2.3. Limitationen und kritische Betrachtung der Studienergebnisse

Die gezeigten Ergebnisse unterliegen gewissen Limitationen, so dass weitere Studien und Experimente nötig sind, um die Ergebnisse abschließend einordnen zu können. So wurden für die humanen Analysen PBMCs verwendet, genauere Ergebnisse könnten mit Lungenzellen und in vivo Infektionen erzielt werden. Ebenso ist die Vergleichbarkeit mit den murinen Daten aufgrund der unterschiedlichen Zellart begrenzt. Die Entscheidung zur Verwendung von PBMCs und in vitro Infektionen begründet sich vor allem auf ethischen Überlegungen, da die Gewinnung von Lungenzellen sowie die in vivo Infektion deutlich invasivere Methoden benötigt. Um die Invasivität für die teilnehmenden Kinder möglichst gering zu halten, wurde ebenso die entnommene Materialmenge begrenzt. Dies hat zur Folge, dass auch das Material zur Auswertung begrenzt war. So war es beispielsweise nicht möglich, die in vitro infizierten Zellen der einzelnen Kinder nur mit den Kontrollzellen der gleichen Kinder zu vergleichen, was ebenso zu einer begrenzten Aussagefähigkeit der beschriebenen Ergebnisse führt. Außerdem waren die Gruppengrößen der AGENDAS Studie sehr klein, so dass auch hier weitere Analysen notwendig sind um die Ergebnisse weiter zu klassifizieren. Ebenso könnten die Ergebnisse durch die Verwendung von Rhinovirus 1b anstelle von z. B. Rhinovirus C, das wie oben beschrieben mit einer höheren Rate an Hospitalisierungen verbunden ist, an Aussagekraft verlieren. Da es sich bei PREDICTA um eine weltweite Studie handelte, in der Rhinovirus 1b verwendet wurde, haben wir uns, zur besseren Vergleichbarkeit, auch in der AGENDAS Studie zur Verwendung von Rhinovirus 1b entschieden. Weitere Studien mit Rhinovirus C sind hier nötig.

Insgesamt sind zur weiteren Einordnung der Ergebnisse und deren Auswirkungen zudem weitere Versuche nötig, in denen die funktionellen Auswirkungen der beschriebenen Ergebnisse untersucht werden. Hierfür könnten z. B. „Downstream“ Gene von Interferonen und deren Rezeptoren gemessen werden.

3. Originalpublikation

Krug J, Kiefer A, Koelle J, et al. TLR7/8 regulates type I and type III interferon signalling in rhinovirus 1b-induced allergic asthma.
Eur Respir J 2021; 57: 2001562 [<https://doi.org/10.1183/13993003.01562-2020>]

4. Literaturverzeichnis

- Baraldo, S., M. Contoli, E. Bazzan, G. Turato, A. Padovani, B. Marku, F. Calabrese, G. Caramori, A. Ballarin, D. Snijders, A. Barbato, M. Saetta, and A. Papi. 2012. Deficient antiviral immune responses in childhood: distinct roles of atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 130 (6):1307-1314.
- Bergauer, A., N. Sopel, B. Kross, T. Vuorinen, P. Xepapadaki, S. T. Weiss, A. Blau, H. Sharma, C. Kraus, R. Springel, M. Rauh, S. Mittler, A. Graser, T. Zimmermann, V. O. Melichar, A. Kiefer, M. L. Kowalski, A. Sobanska, T. Jartti, H. Lukkarinen, N. G. Papadopoulos, and S. Finotto. 2017. IFN-alpha/IFN-lambda responses to respiratory viruses in paediatric asthma. *Eur Respir J* 49 (3).
- Bochkov, Y. A., K. Watters, S. Ashraf, T. F. Griggs, M. K. Devries, D. J. Jackson, A. C. Palmenberg, and J. E. Gern. 2015. Cadherin-related family member 3, a childhood asthma susceptibility gene product, mediates rhinovirus C binding and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112 (17):5485-5490.
- Bundesärztekammer (BÄK), K. B. K., Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). 2020. Nationale VersorgungsLeitlinie Asthma - Langfassung, 4. Auflage.
- Camateros, P., C. Kanagaratham, J. Henri, R. Sladek, T. J. Hudson, and D. Radzioch. 2009. Modulation of the allergic asthma transcriptome following resiquimod treatment. *Physiol Genomics* 38 (3):303-318.
- Caminati, M., D. L. Pham, D. Bagnasco, and G. W. Canonica. 2018. Type 2 immunity in asthma. *World Allergy Organ J* 11 (1):13.
- Corne, J. M., C. Marshall, S. Smith, J. Schreiber, G. Sanderson, S. T. Holgate, and S. L. Johnston. 2002. Frequency, severity, and duration of rhinovirus infections in asthmatic and non-asthmatic individuals: a longitudinal cohort study. *Lancet* 359 (9309):831-834.
- Cox, D. W., J. Bizzantino, G. Ferrari, S. K. Khoo, G. Zhang, S. Whelan, W. M. Lee, Y. A. Bochkov, G. C. Geelhoed, J. Goldblatt, J. E. Gern, I. A. Laing, and P. N. Le Souef. 2013. Human rhinovirus species C infection in young children with acute wheeze is associated with increased acute respiratory hospital admissions. *Am J Respir Crit Care Med* 188 (11):1358-1364.
- Custovic, A., D. Belgrave, L. Lin, E. Bakhsoliani, A. G. Telcian, R. Solari, C. S. Murray, R. P. Walton, J. Curtin, M. R. Edwards, A. Simpson, M. Rattray, and S. L. Johnston. 2018. Cytokine Responses to Rhinovirus and Development of Asthma, Allergic Sensitization, and Respiratory Infections during Childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 197 (10):1265-1274.
- Donnelly, R. P., and S. V. Kotenko. 2010. Interferon-lambda: a new addition to an old family. *J Interferon Cytokine Res* 30 (8):555-564.
- Edwards, M. R., N. Regamey, M. Vareille, E. Kieninger, A. Gupta, A. Shoemark, S. Saglani, A. Sykes, J. Macintyre, J. Davies, C. Bossley, A. Bush, and S. L. Johnston. 2013. Impaired innate interferon induction in severe therapy resistant atopic asthmatic children. *Mucosal Immunol* 6 (4):797-806.
- "Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary." E.D. Bateman, S.S. Hurd, P.J. Barnes, J. Bousquet, J.M. Drazen, J.M. FitzGerald, P. Gibson, K. Ohta, P. O'Byrne, S.E. Pedersen, E. Pizzichini, S.D. Sullivan, S.E. Wenzel and H.J. Zar. *Eur Respir J* 2008; 31: 143-178. 2018. *Eur Respir J* 51 (2).

- Gon, Y., and S. Hashimoto. 2018. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma. *Allergol Int* 67 (1):12-17.
- Hammad, H., and B. N. Lambrecht. 2021. The basic immunology of asthma. *Cell* 184 (6):1469-1485.
- Hansel, T. T., T. Tunstall, M. B. Trujillo-Torralbo, B. Shamji, A. Del-Rosario, J. Dhariwal, P. D. W. Kirk, M. P. H. Stumpf, J. Koopmann, A. Telcian, J. Aniscenko, L. Gogsadze, E. Bakhsoliani, L. Stanciu, N. Bartlett, M. Edwards, R. Walton, P. Mallia, T. M. Hunt, T. L. Hunt, D. G. Hunt, J. Westwick, M. Edwards, O. M. Kon, D. J. Jackson, and S. L. Johnston. 2017. A Comprehensive Evaluation of Nasal and Bronchial Cytokines and Chemokines Following Experimental Rhinovirus Infection in Allergic Asthma: Increased Interferons (IFN-gamma and IFN-lambda) and Type 2 Inflammation (IL-5 and IL-13). *EBioMedicine* 19:128-138.
- Hartsock, A., and W. J. Nelson. 2008. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 1778 (3):660-669.
- Hemmi, H., T. Kaisho, O. Takeuchi, S. Sato, H. Sanjo, K. Hoshino, T. Horiuchi, H. Tomizawa, K. Takeda, and S. Akira. 2002. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol* 3 (2):196-200.
- Holt, P. G., J. W. Upham, and P. D. Sly. 2005. Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: implications for development of asthma prevention strategies. *J Allergy Clin Immunol* 116 (1):16-24; quiz 25.
- Ivashkiv, L. B., and L. T. Donlin. 2014. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol* 14 (1):36-49.
- Jacobs, S. E., D. M. Lamson, K. St George, and T. J. Walsh. 2013. Human rhinoviruses. *Clin Microbiol Rev* 26 (1):135-162.
- Jafarzadeh, A., M. Nemat, S. Jafarzadeh, P. Chauhan, and B. Saha. 2021. The immunomodulatory potentials of interleukin-27 in airway allergies. *Scand J Immunol* 93 (2):e12959.
- Jirno, A. C., K. Daluege, C. Happle, M. Albrecht, A. M. Dittrich, M. Busse, A. Habener, J. Skuljec, and G. Hansen. 2016. IL-27 Is Essential for Suppression of Experimental Allergic Asthma by the TLR7/8 Agonist R848 (Resiquimod). *J Immunol* 197 (11):4219-4227.
- Jurk, M., F. Heil, J. Vollmer, C. Schetter, A. M. Krieg, H. Wagner, G. Lipford, and S. Bauer. 2002. Human TLR7 or TLR8 independently confer responsiveness to the antiviral compound R-848. *Nat Immunol* 3 (6):499.
- Krammer, S., C. Sicorschi Gutu, J. C. Grund, M. T. Chiriac, S. Zirlik, and S. Finotto. 2021. Regulation and Function of Interferon-Lambda (IFNlambda) and Its Receptor in Asthma. *Front Immunol* 12:731807.
- Krug, J., A. Kiefer, J. Koelle, T. Vuorinen, P. Xepapadaki, B. Stanic, M. T. Chiriac, M. Akdis, T. Zimmermann, N. G. Papadopoulos, and S. Finotto. 2021. TLR7/8 regulates type I and type III interferon signalling in rhinovirus 1b-induced allergic asthma. *Eur Respir J* 57 (5).
- Lambrecht, B. N., H. Hammad, and J. V. Fahy. 2019. The Cytokines of Asthma. *Immunity* 50 (4):975-991.
- Liu, J., W. C. HuangFu, K. G. Kumar, J. Qian, J. P. Casey, R. B. Hamanaka, C. Grigoriadou, R. Aldabe, J. A. Diehl, and S. Y. Fuchs. 2009. Virus-induced unfolded protein response attenuates antiviral defenses via phosphorylation-dependent degradation of the type I interferon receptor. *Cell Host Microbe* 5 (1):72-83.
- Lu, J., X. Ji, L. Wang, F. Sun, C. Huang, H. Peng, Y. Jiang, Z. Guo, X. Liu, Y. Ji, and D. Lu. 2022. Interleukin-27 ameliorates allergic asthma by alleviating the lung Th2 inflammatory environment. *Int J Mol Med* 49 (6).
- Lüllmann-Rauch, R. 2009. *Taschenlehrbuch Histologie, 3. Auflage.*

- Miller, E. K., K. M. Edwards, G. A. Weinberg, M. K. Iwane, M. R. Griffin, C. B. Hall, Y. Zhu, P. G. Szilagyi, L. L. Morin, L. H. Heil, X. Lu, J. V. Williams, and N. New Vaccine Surveillance. 2009. A novel group of rhinoviruses is associated with asthma hospitalizations. *J Allergy Clin Immunol* 123 (1):98-104 e101.
- Mordstein, M., E. Neugebauer, V. Ditt, B. Jessen, T. Rieger, V. Falcone, F. Sorgeloos, S. Ehl, D. Mayer, G. Kochs, M. Schwemmler, S. Gunther, C. Drosten, T. Michiels, and P. Staeheli. 2010. Lambda interferon renders epithelial cells of the respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections. *J Virol* 84 (11):5670-5677.
- Newcomb, D. C., U. S. Sajjan, D. R. Nagarkar, Q. Wang, S. Nanua, Y. Zhou, C. L. McHenry, K. T. Hennrick, W. C. Tsai, J. K. Bentley, N. W. Lukacs, S. L. Johnston, and M. B. Hershenson. 2008. Human rhinovirus 1B exposure induces phosphatidylinositol 3-kinase-dependent airway inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 177 (10):1111-1121.
- Ogawa, Y., E. A. Duru, and B. T. Ameredes. 2008. Role of IL-10 in the resolution of airway inflammation. *Curr Mol Med* 8 (5):437-445.
- Pestka, S., C. D. Krause, and M. R. Walter. 2004. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev* 202:8-32.
- Platanias, L. C. 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol* 5 (5):375-386.
- R. Buhl, R. B., X. Baur, D. Berdel, C.-P. Criée, M. Gappa, A. Gillissen, T. Greulich, P. Haidl, E. Hamelmann, P. Kardos, K. Kenn, L. Klimek, S. Korn, M. Lommatzsch, H. Magnussen, T. Nicolai, D. Nowak, O. Pfaar, K. F. Rabe, J. Riedler, T. Ritz, K. Schultz, A. Schuster, T. Spindler, R., C. Taube, K. Taube, C. Vogelmeier, A. von Leupold, F. Wantke, S. Weise, J. Wildhaber, H. Worth, A. Zacharasiewicz. 2017. S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit Asthma. *AWMF*.
- Reddel, H. K., L. B. Bacharier, E. D. Bateman, C. E. Brightling, G. G. Brusselle, R. Buhl, A. A. Cruz, L. Duijts, J. M. Drazen, J. M. FitzGerald, L. J. Fleming, H. Inoue, F. W. Ko, J. A. Krishnan, M. L. Levy, J. Lin, K. Mortimer, P. M. Pitrez, A. Sheikh, A. A. Yorgancioglu, and L. P. Boulet. 2022. Global Initiative for Asthma Strategy 2021. Executive Summary and Rationale for Key Changes. *Arch Bronconeumol* 58 (1):35-51.
- Roma Thamm, C. P.-M., Antje Hüther, Michael Thamm. 2018. Allergische Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland - Querschnittergebnisse aus KiGGs Welle 2 und Trends. *Journal of Health Monitoring*.
- Saraiva, M., P. Vieira, and A. O'Garra. 2020. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med* 217 (1).
- Schroder, K., P. J. Hertzog, T. Ravasi, and D. A. Hume. 2004. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 75 (2):163-189.
- Sommereyns, C., S. Paul, P. Staeheli, and T. Michiels. 2008. IFN-lambda (IFN-lambda) is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells in vivo. *PLoS Pathog* 4 (3):e1000017.
- Sopel, N., A. Pflaum, J. Kollé, and S. Finotto. 2017. The Unresolved Role of Interferon-lambda in Asthma Bronchiale. *Front Immunol* 8:989.
- Strickland, D. H., and P. G. Holt. 2011. T regulatory cells in childhood asthma. *Trends Immunol* 32 (9):420-427.
- Sykes, A., M. R. Edwards, J. Macintyre, A. del Rosario, E. Bakhsoliani, M. B. Trujillo-Torralbo, O. M. Kon, P. Mallia, M. McHale, and S. L. Johnston. 2012. Rhinovirus 16-induced IFN-alpha and IFN-beta are deficient in bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 129 (6):1506-1514 e1506.
- Thompson, A. J., and S. A. Locarnini. 2007. Toll-like receptors, RIG-I-like RNA helicases and the antiviral innate immune response. *Immunol Cell Biol* 85 (6):435-445.

- Wagner, T. L., C. L. Ahonen, A. M. Couture, S. J. Gibson, R. L. Miller, R. M. Smith, M. J. Reiter, J. P. Vasilakos, and M. A. Tomai. 1999. Modulation of TH1 and TH2 cytokine production with the immune response modifiers, R-848 and imiquimod. *Cell Immunol* 191 (1):10-19.
- Wark, P. A., S. L. Johnston, F. Bucchieri, R. Powell, S. Puddicombe, V. Laza-Stanca, S. T. Holgate, and D. E. Davies. 2005. Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *J Exp Med* 201 (6):937-947.
- Whitsett, J. A. 2018. Airway Epithelial Differentiation and Mucociliary Clearance. *Ann Am Thorac Soc* 15 (Suppl 3):S143-S148.
- Zdrengeha, M. T., H. Makrinioti, A. Muresan, S. L. Johnston, and L. A. Stanciu. 2015. The role of macrophage IL-10/innate IFN interplay during virus-induced asthma. *Rev Med Virol* 25 (1):33-49.
- Zhu, J., S. D. Message, P. Mallia, T. Keadze, M. Contoli, C. K. Ward, E. S. Barnathan, M. A. Mascelli, O. M. Kon, A. Papi, L. A. Stanciu, M. R. Edwards, P. K. Jeffery, and S. L. Johnston. 2019. Bronchial mucosal IFN-alpha/beta and pattern recognition receptor expression in patients with experimental rhinovirus-induced asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* 143 (1):114-125 e114.

5. Abkürzungsverzeichnis

AGENDAS	Gender, age and environmental factors that modify immune-response and the development of allergic asthma during the school age in childhood
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
cDNA	Komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CD	Cluster of Differentiation
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluoreszenzaktivierte Zellanalyse
Foxp3	Forkhead-Box-Protein P3
GERD	Gastroesophageal reflux disease
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN	Interferon
IFNAR	Interferon-alpha Rezeptor
IFNGR	Interferon-gamma Rezeptor
IL	Interleukin
ILC2	angeborene lymphatische Zellen Typ 2
IRF	Interferonregulierender Faktor
ISGF	Interferon-stimulated gene factor
ISRE	Interferon-stimulierte Antwortelemente
JAK	Janus Kinase
LDL	Low-density lipoprotein
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure
MyD88	Myeloid differentiation primary response protein
PBMC	Periphere mononukleäre Zellen
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PREDICTA	Post-infectious immune reprogramming and its association with persistence and chronicity of respiratory allergic disease
RSV	Respiratory Syncytial Virus
R848	Resiquimod

Sars-CoV	Severe acute respiratory syndrome coronavirus
STAT	Signal transducer and activator of transcription protein
Th	T-Helfer Zellen
TLR	Toll-like Rezeptor
TYK	Tyrosin Kinase