

Serie Molekulare Allergologie – Teil 9

Das Konzept der Pollen-Panallergene: Profiline und Polcalcine

MICHAEL HAUSER, MICHAEL WALLNER, FÁTIMA FERREIRA, VERA MAHLER, JÖRG KLEINE-TEBBE

Bezeichnung der Allergene: Panallergene (griechisch „pan“, deutsch „alle“) sind wegen ihres ubiquitären Vorkommens und ihrer hohen Strukturähnlichkeit für breitgestreute Kreuzreaktivitäten auch zwischen nicht verwandten Pflanzenspezies verantwortlich. Zu den Panallergenen zählen die Profiline und die Polcalcine. Zahlreiche Moleküle aus der Familie der Profiline und der Polcalcine (Kalzium-bindende Proteine aus Pollen) wurden bereits als Allergene identifiziert. Aufgrund wichtiger Funktionen in der Zelle sind diese Allergene evolutionär stark konserviert und weit verbreitet. Während Polcalcine ausschließlich in Baum-, Gräser- sowie Kräuterpollen vorkommen, konnten Profiline auch in pflanzlichen Lebensmitteln (Früchte, Gemüse, Hülsenfrüchte, Nüsse), Latex und tierischen Organismen nachgewiesen werden.

Struktur und Funktion der Profiline: Profiline sind ubiquitäre, zytosolische Proteine und kommen in allen eukaryotischen Zellen vor. Trotz variabler Aminosäuresequenzen, ist die Proteinfaltung der Profiline stark konserviert und Grundlage für die hohe serologische Kreuzreaktivität. Ein aus sieben Strängen bestehendes kompaktes β -Faltblatt bildet das Zentrum des Moleküls, das von drei α -Helices umgeben ist (Abb. 1). Als Actin-bindende Moleküle sind Profiline an der Zellmobilität und der Signalweiterleitung zwischen Membranen und dem Zytoskelett beteiligt [8]. Profilin-defiziente Pflanzen zeigen Minderwuchs und einen reduzierten Fruchtansatz [4].

Bedeutung der Profiline: Die Sensibilisierungsrate gegenüber Profilinen variiert sehr stark – zwischen 5 und 40 % der Pollenallergiker sind gegenüber Profilinen sensibilisiert. Offenbar beeinflussen sowohl die Allergenquelle als auch geografische Faktoren die Profilinsensibilisierung. Diese war gegenüber Beifuß (Art v 4) und Ambrosia- (Amb a 8)

Profilin bei Kräuterpollenallergikern aus Italien nicht so häufig wie bei einer österreichischen Population (20 % gegenüber 45–50 %) [11].

Profiline stellen jedoch auch potenzielle Allergene in Nahrungsmitteln dar. So sind 70–90 % der Melonen- und Orangenallergiker gegen Profiline sensibilisiert [7].

Die hohe IgE-Kreuzreaktivität von Profilinen aus verschiedensten Allergenquellen (z. B. zwischen Pollen und exotischen Früchten) beruht auf der stark konservierten dreidimensionalen Struktur. Die klinische Relevanz von Profilinen ist jedoch nach wie vor umstritten, da nur ein Teil der Profilin-sensibilisierten Patienten auch Symptome entwickelt, die bei Pollenallergikern eher gering ausgeprägt sind, und nur im Einzelfall – z. B. bei Profilin-bedingter Nahrungsmittelallergie – bedrohlichen Charakter annehmen können [7, 1].

Struktur und Funktion der Polcalcine: Neben Parvalbuminen [3] stellen Polcalcine (Monomer 8–9 kDa) die Mehrzahl der allergenen kalziumbindenden Proteine dar – mit dem Unterschied, dass ihre Expression auf Pollen beschränkt ist. Charakteristisch ist die EF-Hand-Domäne (Helix-Loop-Helix-Struktur) zur Bindung von Kalzium. Das Protein ändert dadurch seine Konformation und wird stabiler [3]. Anhand der Anzahl dieser EF-Hand-Domänen lassen sich zumindest drei Typen von Polcalcinen unterscheiden: Allergene mit zwei kalziumbindenden Domänen (z. B. Aln g 4 aus Erle, Amb a 9 aus Ambrosia, Art v 4 aus Beifuß, Bet v 4 aus Birke), mit drei (z. B. Amb a 10 aus Ambrosia und Bet v 3 aus Birke), aber auch mit vier kalziumbindenden Domänen (z. B. Jun o 4 aus Stechwacholder und Ole e 8 aus Olive). Die genaue biologische Funktion von Polcalcinen ist unklar. Aufgrund ihrer Lokalisation in Pollen und der Kontrolle des intrazellulären Kalziumgehalts ist jedoch anzunehmen,

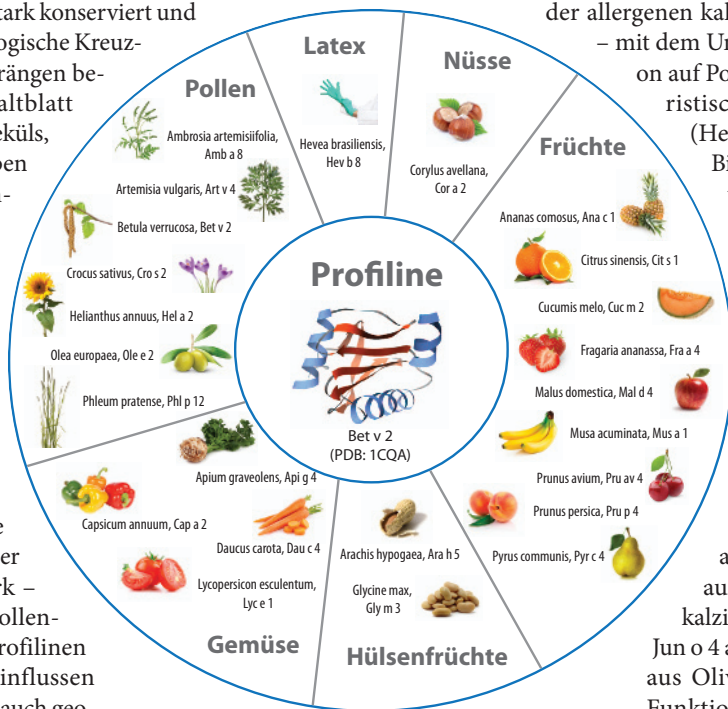


Abb. 1: Die wichtigsten kreuzreaktiven Profiline mit der Struktur des Birkenpollen-Profilin (Abbildung erstellt mit UCSF Chimera)

© (24) fotolia.com

In Focus

dass Polcalcine während der Pollenkeimung eine entscheidende Rolle spielen [10].

Bedeutung der Polcalcine: Bei kalziumbindenden Proteinen lassen sich zwei Konformationen unterscheiden: die kalziumfreie oder geschlossene- (apo-) Form und die kalziumgebundene- (holo-) Form. Letztere ist eher IgE-reaktiv und thermostabil. Polcalcine sind sehr kreuzreaktive Allergene mit Sensibilisierungsraten von 5–10 % bei Pollenallergikern. Innerhalb der Polcalcine stellt Phl p 7 aus Graspollen das am stärksten kreuzreaktive Molekül (**Abb. 2**) dar. Es kann daher als Markerallergen zur Identifikation multipler Pollenkreuzreaktionen dienen. Die erhöhte IgE-Bindung von Phl p 7 könnte auf der dimeren Struktur des Moleküls beruhen, es fehlen jedoch noch vergleichende Studien mit anderen Vertretern wie z. B. monomerem Bet v 4 aus Birke und tetramerem Cha e 3 aus Gänsefuß [9]. Ähnlich den Profilinen ist die klinische Relevanz von Polcalcinsensibilisierungen stark von geografischen Faktoren sowie der Allergenquelle abhängig [1].

Diagnostik bei fraglichen Multisensibilisierungen gegen Pollen:

Als Panallergene sind Polcalcine und Profiline für multiple Pollensensibilisierungen und Profiline zusätzlich für assoziierte Kreuzreaktionen zwischen Pollen, Nahrungsmitteln und Latex [6] verantwortlich. Bei bestimmten Nahrungsmitteln können Profiline durchaus klinisch relevante Majorallergene darstellen.

Probleme bei der spezifischen Diagnose von Pollensensibilisierungen entstehen sowohl durch Profiline als auch durch Polcalcine aufgrund ihrer starken Ähnlichkeit und potenziell klinisch relevanten Kreuzreaktionen.

- Im Pricktest fallen diese Patienten durch zahlreiche Sensibilisierungen gegen diverse botanisch nur bedingt verwandte Pollenpflanzen auf. Bei gleichzeitiger Profilin- und Polcalcinsensibilisierung können sogar sämtliche getesteten Pollenextrakte positiv reagieren (sowohl im Hauttest als auch beim IgE-Nachweis mit Extrakten).

- Zusätzliche Hinweise auf eine Profilinsensibilisierung wären Symptome durch pflanzliche Lebensmittel abseits der typischen Bet-v-1-homologen Nahrungsmittelallergene [2] mit nachgewiesenem Profilinanteil wie z. B. Melone, Banane, Zitrusfrüchte, exotische Früchte, Gurke oder andere Gemüsearten.

An diesem Punkt ist der direkte Sensibilisierungsnachweis gegen jeweils einen Vertreter der (rekombinanten) Panallergene indiziert:

- spezifisches IgE gegen Lieschgras-Polcalcin Phl p 7 (empfohlenes Panallergen);
- spezifisches IgE gegen Lieschgras-Profilin Phl p 12 oder Birkenpollen-Profilin Bet v 4 (beide als Panallergen geeignet). Eine kostengünstige Variante ist die gemeinsame Bestimmung in einem IgE-Test, der entweder mit kombiniertem Profilin/Polcalcin aus Birkenpollen (t221) oder Gräserpollen (g214, ImmunoCAP, Thermo-Fisher-Katalog) angeboten wird, aber keine Differenzierung der beiden Panallergene zulässt.

Komponentendiagnostik bei Panallergensensibilisierungen:

Bei positivem Ergebnis auf Polcalcin oder Profilin bzw. auf beide Panallergene erlauben weder Hauttests noch IgE-Bestimmungen mit Pollenextrakten eine sichere Differenzierung der Allergenquelle. Zum gezielten Sensibilisierungsnachweis oder -ausschluss gegenüber Pollen werden daher genuine speziesspezifische Markerallergene eingesetzt (**Abb. 3**):

- Bet v 1 (Birkenpollen-Majorallergen: Sensibilisierungsmarker für Birken-, Hasel-, Erlen-, Buchen- und Eichenpollen) und Ole e 1 (Olivenpollen-Majorallergen: Sensibilisierungsmarker für Eschenpollen);
- Phl p 1 und Phl p 5 (Gräserpollen-Majorallergene: Sensibilisierungsmarker für sämtliche Gräserpollen sowie Roggenpollen);
- Art v 1 (Beifuß-Majorallergen) und gegebenenfalls Amb a 1 (Ambrosia-Majorallergen).

Klinische Relevanz der Panallergene: Häufig sind Panallergiker nur gegen bestimmte (z. B. Bet v 1 oder Phl p 1/Phl p 5), aber

nicht gegen sämtliche primären Majorallergene sensibilisiert („Pseudo-Multiallergiker“). Die klinische Relevanz ist wie bei der Extraktdiagnostik nur bei korrespondierenden Symptomen gegeben und für die Panallergene (Profilin, Polcalcin) mit den verfügbaren Pollenextrakten schwer zu ermitteln. Unschwellige Symptome während der gesamten Pollensaison können auf Panallergensensibilisierungen beruhen. Konjunktivale Provokationstests mit Profilin-haltigen Extrakten (z. B. Pollen von Dattelpalmen, ALK-Abelló, Spanien) induzieren bei einem Teil der Betroffenen positive Reaktionen [5].

Extraktauswahl zur spezifischen Immuntherapie:

Patienten mit ausschließlicher Sensibilisierung gegen Pollen-Pan- bzw. Minorallergene – eine sehr seltene Konstellation – sind wahrscheinlich ungeeignet für eine spezifische Immuntherapie (SIT). Vor

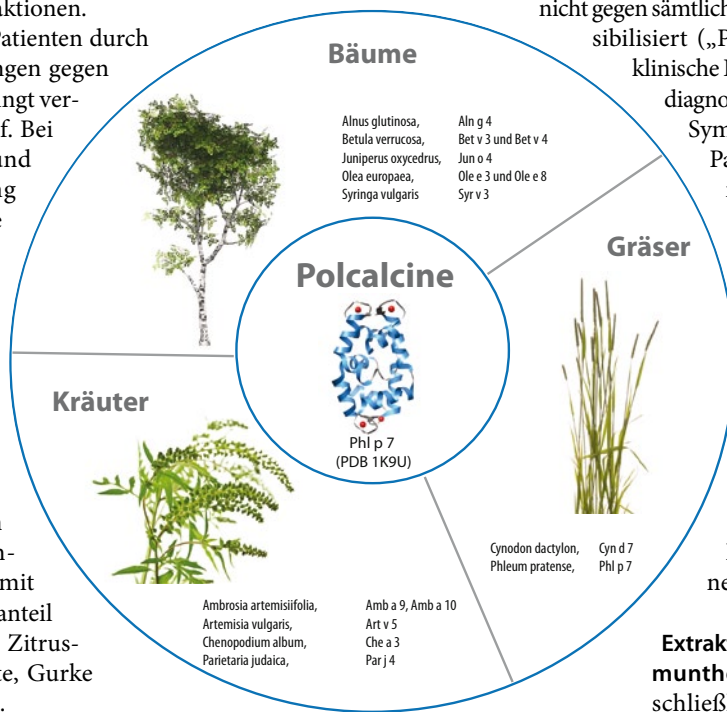


Abb. 2: Kreuzreaktive Polcalcine aus Pollen. Bildmitte: Dreidimensionale Struktur des Markerallergens Phl p 7; gebundenes Kalzium in rot dargestellt (Abbildung erstellt mit UCSF Chimera)

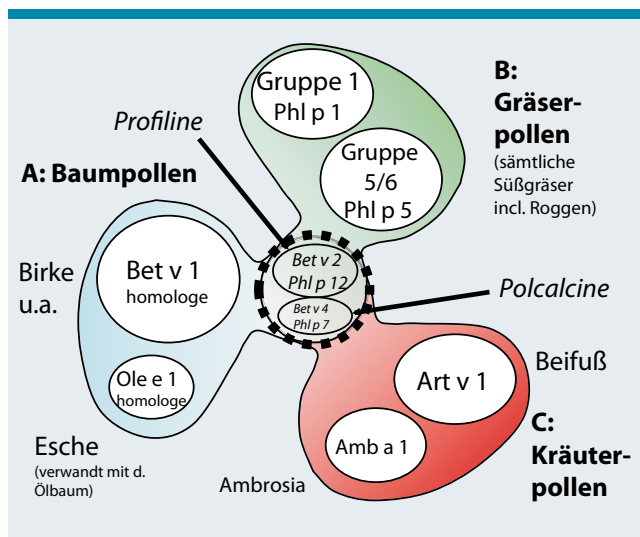


Abb. 3: Speziespezifische, genuine Markerallergene (Propellerflügel) und hoch kreuzreaktive Panallergene (Propellerzentrum gestrichelt)

der Extraktauswahl zur SIT sollten bei nachgewiesener Profilin- und/oder Polcalcinsensibilisierung zusätzlich primäre Pollen-Majorallergene getestet werden (Abb. 3), um eine erfolglose Pollen-SIT zu vermeiden [8]. Reagiert beispielsweise ein Patient im Hauttest positiv auf Birkenpollen, ist jedoch nicht gegen das Majorallergen Bet v 1, sondern nur gegen das Birkenpollen-Profilin Bet v 2 sensibilisiert, wäre eine Birkenpollen-SIT nicht indiziert. Dies ist häufig bedingt durch eine Kreuzreaktion bei primärer Sensibilisierung auf die stärker in Gräserpollen exprimierten Profiline wie Phl p 12.

Um zusätzliche Kosten durch ungeeignete Extrakte zu vermeiden, werden in Österreich und in der Schweiz (mit wahrscheinlich höheren Profilinsensibilisierungsraten) vor jeder SIT mit Pollenextrakten die Sensibilisierungen gegen die Panallergene Polcalcin und Profilin ermittelt.

Bei multiplen Sensibilisierungen (Hauttest, IgE-Bestimmung) auf Pollenextrakte ist der Einfluss von Panallergenen unbedingt zu berücksichtigen, und eine molekülbasierte Diagnose mit natürlich gereinigten oder rekombinant produzierten Minor- und Majorallergenen ist hilfreich und wünschenswert [8].

Fazit: Die Allergiediagnostik (Hauttest, spezifische IgE-Bestimmung) wird bei ca. 10–15 % der Pollenallergiker in Deutschland durch eine Sensibilisierung gegenüber Panallergenen (Profiline/Polcalcine) und deren Kreuzreaktivität erheblich beeinträchtigt. Dabei handelt es sich nicht um falsch positive, sondern um überwiegend irrelevante Sensibilisierungen/Kreuzreaktionen und nur im Einzelfall um klinisch relevante Reaktionen, z. B. durch profilinhaltige Nahrungsmittel wie Melone oder exotische Früchte.

Mit Hilfe einer molekülbasierten Diagnostik und spezifischer IgE-Bestimmung gegen Pollen-Einzelallergene können Sensibilisierungen gegen wichtige Major- und Marker-Allergene gezielt ermittelt werden. Die resultierenden Sensibilisierungsmuster, deren klinische Relevanz sich an korrespondierenden Sym-

ptomen orientiert und im Zweifelsfall durch einen Provokationstest bestätigt werden sollte, erleichtern die Auswahl geeigneter Extrakte zur SIT bei Pollenallergikern.

Dr. Michael Hauser

Christian Doppler Labor für Allergiediagnose und -Therapie, Fachbereich Molekulare Biologie, Universität Salzburg
Hellbrunnerstraße 34
5020 Salzburg
Österreich
E-Mail: michael.hauser@sbg.ac.at

Dr. Michael Wallner

Christian Doppler Labor für Allergiediagnose und -Therapie, Fachbereich Molekulare Biologie, Universität Salzburg

Prof. Dr. Fátima Ferreira

Christian Doppler Labor für Allergiediagnose und -Therapie, Fachbereich Molekulare Biologie, Universität Salzburg

Prof. Dr. Vera Mahler

Allergieabteilung der Hautklinik, Universitätsklinikum Erlangen

PD Dr. Jörg Kleine-Tebbe

Allergie- und Asthma-Zentrum Westend, Berlin-Charlottenburg

Danksagung

Christian Doppler Gesellschaft und Biomay AG, Wien; CK-CARE AG, Davos

Literatur

1. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2010; 6: 1
2. Kleine-Tebbe J, Balmer-Weber B, Breiteneder H, Vieths S. Bet v 1 und Homologe – Verursacher der Baumpollenallergie und birkenpollenassoziierte Kreuzreaktionen. *Allergo J* 2010; 19: 462–4
3. Kühn A, Radauer C, Swoboda I, Kleine-Tebbe J. Molekulare Diagnostik der Fischallergie: Parvalbumine und andere Allergene. *Allergo J* 2012; 21:16–8
4. Le LQ, Mahler V, Lorenz Y, Scheurer S, Biemelt S, Vieths S, Sonnewald U. Reduced allergenicity of tomato fruits harvested from Lyc e 1-silenced transgenic tomato plants. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 1176–83
5. Nunez R, Carballada F, Lombardero M, Jimeno L, Boquete M. Profilin as an aeroallergen by means of conjunctival allergen challenge with purified date palm profilin. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 158: 115–9
6. Raulf-Heimsoth M, Rihs HP. Latexallergene: Sensibilisierungsquellen und Einzelallergenprofile erkennen. *Allergo J* 2011; 20: 241–3
7. Santos A, van Ree R. Profilins: Mimickers of allergy of relevant allergens? *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 191–204
8. Schmid-Grendelmeier P. Recombinant allergens: For routine use or still only science. *Hautarzt* 2010; 61: 946–53
9. Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, Puggioni EM, Butteroni C, Afferni C, Mari A, Hayek B, Di Felice G, Focke M, Westritschnig K, Valenta R, Pini C. Molecular, structural, and immunological relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 314–20
10. Wopfner N, Dissertori O, Ferreira F, Lackner P. Calcium-binding proteins and their role in allergic diseases. *Immunol Allergy Clin N Am* 2007; 27: 29–44
11. Wopfner N, Gruber P, Wallner M, Briza P, Ebner C, Mari A, Richter K, Volge L, Ferreira F. Molecular and immunological characterization of novel weed pollen pan-allergens. *Allergo J* 2008; 63: 872–81