

Die Rolle des Umweltmikrobioms in der Asthma- und Allergientstehung

Erika von Mutius

Zusammenfassung

Asthma und allergische Erkrankungen finden sich viel seltener bei Kindern, die auf einem traditionellen Bauernhof aufwachsen, als bei Kindern, die zwar am selben Ort, jedoch nicht auf einem Hof leben. Ein Grund für diesen Schutz stellt der Aufenthalt der Kinder in einem Kuhstall dar, der mit einer Exposition zu zahlreichen Mikroorganismen einhergeht. Dieser Schutz beginnt schon ganz früh im Leben, wenn die Kinder in den Kuhstall mitgenommen werden. Unter solchen Umständen verringert sich die Entwicklung von asthmatischen Beschwerden dosisabhängig um mehr als die Hälfte im Vergleich zu nicht exponierten Kindern. In der Folge haben wir zeigen können, dass tatsächlich die Diversität des Umweltmikrobioms den Schutz vor Asthma vermittelt. Welche Faktoren es im Umweltmikrobiom sind, die dafür letztendlich verantwortlich sind, können wir derzeit nicht mit Sicherheit sagen, es steht jedoch fest, dass es sich nicht um einen einzelnen Keim, sondern am ehesten um einen »mikrobiellen Cocktail« handelt. Wie genau dieser zusammengesetzt sein muss, um wirksam zu sein, müssen weitere Studien an Labormodellen untersuchen. Wir wissen aber, dass das Umweltmikrobiom das menschliche Mikrobiom in Nase und Rachen verändert und dass die umweltbedingten Veränderungen des Nasenmikrobioms zum Schutz vor Asthma beitragen.

Summary

The environmental microbiome and the development of asthma and allergy

The prevalence of asthma and allergic diseases is significantly lower among children raised on traditional farms as compared to non-farm children. One important protective exposure is the child's stay in cowsheds, which amounts to exposure to a rich microbial environment. The protective effect starts early in life, when infants are taken into cowsheds. In such circumstances, the risk of developing asthma-like symptoms is reduced by more than half in a dose-dependent manner as compared to non-exposed infants. Subsequently we have shown that the diversity of the environmental microbiome is a strong determinant of asthma protection. Although we could not identify the necessary components within this microbiome with certainty, we know that not one microbe alone, but most likely a cocktail of different microbes provides the protection. The exact composition of this cocktail remains to be explored by means of experimental studies. However, we have shown that the environmental microbiome influences the human microbiome in the nose and pharynx, and that changes of the nasal microbiome in part mediate the farm effect on asthma.

✉ Prof. Dr. med. Dr. h.c. Erika von Mutius, Dr. von Haunersches Kinderspital, Kinderklinik und Kinderpoliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, Lindwurmstraße 4, 80337 München; erika.von.mutius@med.uni-muenchen.de

Einführung

Als Kinderärztin und Epidemiologin interessiere ich mich schon seit längerem für vergleichende Studien an Kindern. Um zu verstehen, warum manche Kinder Asthma und Allergien bekommen und andere Kinder nicht, habe ich Schulkinder in ganz Bayern untersucht, also eine sogenannte »Normalbevölkerung«. Eine der Beobachtungen war, dass Kinder, die auf Bauernhöfen aufwachsen, weniger Asthma und Allergien haben. Für unsere Studien sind wir in die Volksschulen gegangen und haben Eltern von Kindern im Alter von 6 bis 12 Jahren befragt, ob sie auf einem Bauernhof leben und ob dieser Bauernhof noch bewirtschaftet wird, und haben bei diesen Kindern Allergietests durchgeführt. Es handelt sich also um keinen Stadt/Land-Vergleich, sondern wir vergleichen Kinder, die auf einem traditionellen Bauernhof leben und täglich Kontakt mit den Tieren haben, mit Kindern vom selben Ort, die nicht auf einem Bauernhof leben.

Bäuerliche Lebensweise als Schutzfaktor

Vergleichende Studien mit Schulkindern: Der Bauernhofeffekt

In einer der ersten derartigen Studien in ländlichen Regionen im Allgäu, in der Schweiz und in Österreich (Lungau, Bundesland Salzburg) hatten wir festgestellt, dass Kinder, die auf dem Bauernhof aufgewachsen waren und deren Eltern noch eine aktive Landwirtschaft betrieben hatten, sowohl in Bezug auf die Angaben der Eltern über Beschwerden als auch gemäß ärztlicher Diagnose wesentlich weniger Asthma und Heuschnupfen hatten als Kinder vom selben Ort, die nicht auf einem Bauernhof aufgewachsen waren (Abb. 1). Dieser Unterschied zeigte sich auch im Allergietest, der anhand von Blutproben der Studienkinder durchgeführt wurde (ALEX-Studie¹; Riedler et al. 2001). Seitdem sind diese Ergebnisse in etwa 40 Studien weltweit bestätigt worden (Genuneit 2012): Kinder, die auf einem traditionellen Bauernhof aufwachsen, haben weniger Asthma und Allergien.

Ein Leben auf dem Bauernhof unterscheidet sich von dem eines Nachbarkindes im selben

Ort in vielfacher Weise. Was genau macht also diesen Effekt aus? Wir haben zusammen mit Landwirten einen langen Fragebogen mit über 40 Fragen entwickelt, um die Aktivität und die Hauptaufenthaltssorte der Kinder herauszufinden. In einer Studie mit fast 8500 Kindern in Bayern und Baden-Württemberg, der Schweiz, Österreich (Tirol) und Polen haben sich im Wesentlichen zwei Faktoren als entscheidend für den Schutz vor Asthma und Allergien (atopische Sensibilisierung) herausgestellt (GABRIEL Advanced Studies; Illi et al. 2012):

- Kontakt mit Kühen und Stroh: Den größten protektiven Effekt für Asthma und allergische Sensibilisierung hatte ein traditioneller Stall mit Stroh als Einstreu und Heu zum Füttern, vielleicht auch eine Silage. Für den Schutz vor Asthma müssen Kühe vorhanden sein; Schafe, Pferde oder Ziegen allein genügen nicht.
OR² Asthma (Stroh, Kühe): 0,68 (0,54–0,85);
OR atopische Sensibilisierung (Stroh): 0,66 (0,56–0,78).
- Regelmäßiger Verzehr von frischer Kuhmilch.
OR Asthma: 0,81 (0,68–0,96);
OR atopische Sensibilisierung: 0,77 (0,67–0,88).

Amische Kinder im Vergleich

Bei einer Vorstellung unserer Studienergebnisse in den USA hat mir ein Arzt-Kollege von Amish People im Norden des Bundesstaates Indiana erzählt. Die dort lebende Gruppe der Amischen stammt aus dem Berner Oberland in der Schweiz, wo Amische als Wiedertäufer religiös verfolgt worden waren. Sie sind vor etwa 200 Jahren über mehrere Jahrzehnte in die USA emigriert und pflegen dort einen sehr traditionellen Lebensstil. Sie benutzen keine Traktoren, sondern arbeiten mit landwirtschaftlichen Geräten, die von Pferden gezogen werden, haben keine Elektrizität und benutzen z.B. Pferdekutschen statt Autos; ihre Lebensweise ist in etwa vergleichbar mit der bäuerlichen Lebensweise bei uns zu Beginn des

1 Zu den im Beitrag genannten Studien s. S. 127.

2 Odds Ratio (OR): OR = 1: kein Unterschied zwischen den zwei Gruppen (mit/ohne Risikofaktor bzw. ohne/mit Schutzfaktor); OR = 0,7: 30-prozentige Reduzierung des Risikos in der Gruppe ohne Risikofaktor bzw. in der Gruppe mit einem Schutzfaktor.

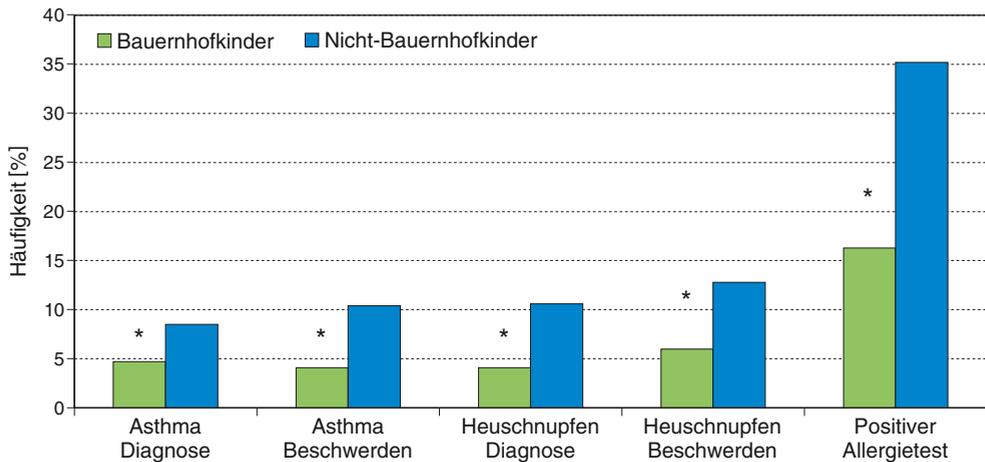


Abb. 1. Häufigkeit (in %) von Asthma, Heuschnupfen und Atopie (positiver Allergietest) bei Schulkindern (6–12 Jahre), die auf einem Bauernhof leben ($n = 319$) und Nicht-Bauernhofkindern vom selben Ort ($n = 493$) in Deutschland (Allgäu), der Schweiz und Österreich (Lungau). Beschwerden: nach Angabe der Eltern; Allergietest: spezifische IgE-Antikörper gegen häufige Allergene im Blutserum; * $p < 0,05$. – Nach Daten aus der ALEX-Studie.

20. Jahrhunderts. Mein Kollege hat mir erzählt, dass er Amischen angeboten hatte, bei ihnen Asthma und Allergien umsonst zu behandeln. Das Problem war aber, dass es keine solchen Patienten gab: Diejenigen, die zu ihm gekommen waren, hatten keine Allergie. Er hat mich daraufhin zu ihnen mitgenommen und so entstand die Idee zu einem Vergleich mit Bauernhofkindern in der Schweiz.

Wir haben Kinder der Amischen nach der Häufigkeit von Asthma, Heuschnupfen und Allergien mit einem gegenüber der GABRIEL-Studie geringfügig abgeänderten Fragebogen befragt und Allergietestungen durchgeführt (Holbreich et al. 2012). Als Vergleich dienten die Schweizer Kinder mit und ohne Stallkontakt aus der GABRIEL-Studie (Abb. 2).

Die Allergietests habe ich selber durchgeführt und kann daher bestätigen, dass die amischen Kinder mit positivem Allergietest alle nicht krank waren. Heuschnupfen war praktisch überhaupt nicht vorhanden und das, was wir in der Studie als Asthma bezeichnet haben, würde ich als Kinderärztin nicht als Asthma, sondern als virusinduzierte spastische Bronchitiden bezeichnen. Diesen großen Schutz vor Asthma und Allergien bei amischen Kindern konnten wir in einer zweiten Studie bestätigen (Stein et al. 2016).

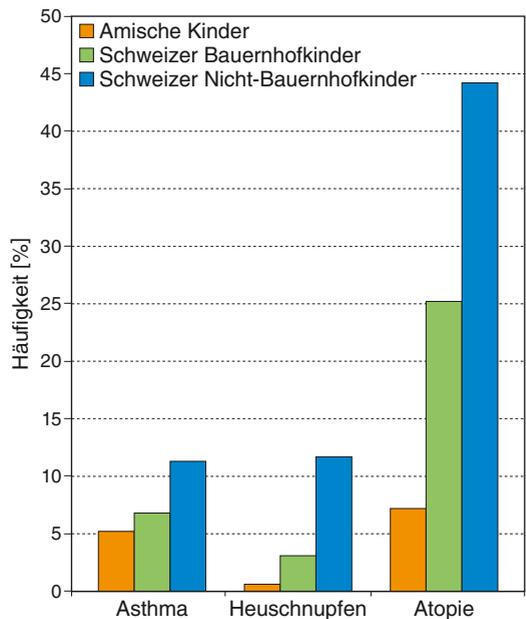


Abb. 2. Häufigkeit (in %) von Asthma, Heuschnupfen und Atopie bei amischen Kindern (Indiana, USA), bei Kindern in der Schweiz, die auf einem Bauernhof leben, und bei Nicht-Bauernhofkindern vom selben Ort; Schulkinder (6–12 Jahre); $n = 157$, 3006 bzw. 10912 für Asthma und Heuschnupfen (ärztliche Diagnose); $n = 138$, 884 bzw. 628 für Atopie (PrickTest bzw. spezifische IgE-Antikörper gegen häufige Allergene). – Holbreich et al. (2012).



Abb. 3. Familie aus der Pasture-Kohorte (Bayern): Frühkindlicher Aufenthalt in einem Kuhstall als Schutzfaktor vor Asthma und Allergien. – Foto: PASTURE-Studie.

Die PASTURE-Geburtskohorte im bäuerlichen Milieu

Wir wissen aus unseren Studien aus dem Alpenraum, dass Kinder, die in ländlichen Regionen auf einem Bauernhof aufwachsen, schon sehr früh in den Stall mitgenommen werden (Abb. 3). Es handelt sich meist um Familienbetriebe, d. h., die Eltern arbeiten im Stall und nehmen die Kinder von ganz klein auf mit. Der früheste Stallkontakt, den wir bei den Studien miterlebt haben, fand im Alter von 8 Tagen statt. Tatsächlich beginnt auch der Schutz bereits im frühen Lebensalter, zusätzlich gibt es einen Schutzfaktor durch die Mutter, wenn sich diese während ihrer Schwangerschaft im Stall aufhält (von Mutius 2016).

In einer weiteren Studie, die wir in Bayern, der Schweiz, Österreich, Finnland und Frankreich durchgeführt haben, haben wir Frauen auf dem Land schon in der Schwangerschaft für eine Geburtskohorte rekrutiert; die Hälfte davon waren Bäuerinnen, die andere Hälfte nicht (PASTURE-Studie; Loss et al. 2016). Ihre Kinder haben wir kontinuierlich weiterbegleitet, mittlerweile sind

sie bis zu 15 Jahre alt. Im ersten Lebensjahr haben die Mütter für uns ein Tagebuch geführt, mit genauen Angaben z.B. darüber, ob sie die Kinder stillen, was sie ihnen beifüttern, ob die Kinder im Stall und in der Scheune dabei sind und vieles mehr.

Aus diesem Tagebuch geht klar hervor, dass die Kinder mit sehr frühem Kontakt zum Kuhstall deutlich weniger asthmatische Beschwerden (spastisches Pfeifen) haben als Kinder, die nicht mit in den Stall genommen werden (OR: 0,55; Loss et al. 2016). In diesem Kindesalter hat Asthma nichts mit Allergie zu tun, sondern mit Virusinfekten. Wir wissen auch, dass die Kinder, die im Kuhstall dabei waren, weniger Fieber und weniger Schnupfen haben, dass sie aber genauso mit Viren besiedelt sind wie die Kinder ohne Stallkontakt. Warum dies so ist, wissen wir noch nicht genau. Wir wissen aber, dass es einen Dosisseffekt bei den Kindern im ersten Lebensjahr gibt (Loss et al. 2016). Kinder, die im ersten Lebensjahr bis zu 2 Std./Woche (etwa 20 Min./Tag) im Stall waren, hatten ein etwas geringeres Risiko, asthmatische Beschwerden

zu bekommen, als Kinder ohne Stallkontakt. Bei Kindern, die im ersten Lebensjahr mehr als 2 Std./Woche im Stall waren, war das Risiko sehr gering und kam den Ergebnissen bei den amischen Kindern sehr nahe. Ich denke, der Unterschied zwischen den amischen und den Schweizer Kindern ist vor allem, dass die Landwirtschaft bei den amischen Familien noch traditioneller und intensiver stattfindet und die Exposition noch größer als bei uns ist.

Was schützt im Kuhstall?

Diversität der mikrobiellen Exposition

Wenn der Kuhstall für den Schutz vor Asthma und Allergien so gut ist: Was ist es denn genau im Stall, das protektiv wirkt – angesichts der Unmengen an Viren, Bakterien, Protozoen, Archaeen, Schimmelpilzen, Pflanzenbestandteilen und Allergenen, die in einem Kuhstall vorkommen?

Wir haben uns an bestimmte Faktoren bei den Kindern, die auf einem Bauernhof aufgewachsen sind, herangetastet und mit den Bakterien und Schimmelpilzen begonnen, die sich mit herkömmlichen Sequenzierungsmethoden relativ gut untersuchen lassen. Die Proben haben wir von den Matratzen der Kinder genommen, da sich herausgestellt hat, dass die Kinder das, was im Stall an Mikroben vorhanden ist, auf den Haaren, der Kleidung und der Haut in die Matratze bringen (PARSIFAL- und GABRIEL-A-Studie). Von der Exposition her sind 20 Minuten im Stall vergleichbar zu 8 Stunden Schlaf auf der Matratze, die ein gutes Reservoir für Bakterien und Schimmelpilze ist (Normand et al. 2011). Sind in den Matratzen viele Bakterien und Schimmelpilze vorhanden, sinkt die Wahrscheinlichkeit für Kinder, an Asthma zu erkranken (Ege et al. 2011).

Sicher ist, dass der protektive Effekt nicht von *einem* Keim oder *einer* Exposition verursacht wird. Als Epidemiologen sind uns in gewisser Weise die Hände gebunden bei dem Versuch herauszufinden, ob z. B. die Diversität insgesamt oder bestimmte Kombinationen von Keimen ausschlaggebend sind. Wir gehen inzwischen von einem »mikrobiellen Cocktail« aus, der die schützende Wirkung hervorruft, der aber nicht definiert zusammengesetzt ist, sondern auch aus wechselnden Bestandteilen besteht (Abb. 4, Ege et al. 2011). Dieser Eindruck passt gut zu dem, was Frau Stecher gesagt hat (vgl. Beitrag Herp &

Bakterien

Firmicutes: *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus* sp., *Salinococcus* sp., *Macroccoccus* sp., *Bacillus* sp. und *Jeotgalicoccus* sp., *Listeria monocytogenes*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus* sp.

Actinobacteria: *Corynebacterium* sp.

Alphaproteobacteria: *Methylobacterium* sp.

Gammaproteobacteria: *Xanthomonas* sp., *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp., *Acinetobacter lwoffii*

und andere.

Schimmelpilze

Eurotium sp., *Penicillium* sp.

Abb. 4. Bakterien und Schimmelpilze aus Matratzenproben von Bauernhofkindern, die mit einem Schutz vor Asthma verbunden sind. – Daten aus Ege et al. (2011).

Stecher-Letsch [2019] in diesem Band): Wir haben möglicherweise die Taxonomie beschrieben, sind aber noch nicht auf der metagenomischen funktionellen Ebene angelangt, um Genaueres aussagen zu können.

Wir haben Proben aus dem Kuhstall in Lösung gebracht und diese Lösung Mäusen in die Nase appliziert. Damit konnten wir in dem Mausmodell einen weitgehenden Schutz vor allergischem Asthma bewirken. Das funktioniert auch mit manchen Bakterien, z. B. mit *Acinetobacter lwoffii* (Gammaproteobacteria) (Debarry et al. 2007).

Interaktion von Umweltmikrobiom und dem Mikrobiom aus dem Nasen- und Rachenraum

Wie aber interagiert das Umweltmikrobiom, dessen schützenden Effekt wir statistisch-epidemiologisch nachweisen können, mit dem menschlichen Mikrobiom in den oberen Atemwegen und im Darm?

Im Rahmen der GABRIEL-Studie haben wir uns dazu den Nasenraum ($n = 74$), den Rachenraum ($n = 327$) und Nasenraum-Matratzen-Paare ($n = 86$) bei Kindern im Schulalter sowie den Darm (Fäkalproben) bei jüngeren Kindern angesehen (Birzele et al. 2017, Depner et al. 2017). Sowohl die Nasenraumproben als auch die Nasenraum-Matratzen-Proben haben das Ergebnis aus den oben erwähnten Untersuchungen des Matratzenstaubs bestätigt: Die höhere mikrobielle Diversität bei Kindern vom Bauernhof geht im Vergleich zu Kindern, die nicht auf

einem Bauernhof leben, mit weniger Asthma einher sowie mit einem geringeren Gehalt an *Moraxella* sp. (Gammaproteobacteria), ein im Nasenraum häufiges, fakultativ pathogenes Bakterium bei Asthma. Es scheint so zu sein, dass die mikrobielle Diversität in der Nasenschleimhaut das Auswachsen von *Moraxella* verhindert. Der Rachen ist näher an der Lunge, daher hatten wir ein ähnliches Ergebnis für den Rachenraum erwartet. Wir finden jedoch im Gegensatz zur Nase, die ebenfalls eine Schleimhaut darstellt, die mit den unteren Atemwegen verbunden ist, in einem Rachenabstrich zwar bei den Bauernhofkindern ebenfalls eine höhere Bakteriendiversität, aber kein Signal mit Asthma (Birzele et al. 2017, Depner et al. 2017).

Warum die Nase und nicht der Rachen? Herr Nowak, der aus der Arbeitsmedizin kommt, hat vor Jahren die Partikelgrößen, die in einem Kuhstall vorkommen, und ihre Deposition in den Atemwegen untersucht. Demnach handelt es sich in erster Linie um grobe Staubpartikel, die in der Nase steckenbleiben (Berger et al. 2005). Vermutlich ist also auch in unseren Studien die Interaktion entscheidend, die in der Nasenschleimhaut passiert. Da wir bei den Kindern keine Bronchoskopie oder Ähnliches durchführen können, können wir diese Frage jedoch nicht mit Sicherheit beantworten.

Interaktion von Umweltmikrobiom und dem Darmmikrobiom

Das Darmmikrobiom entwickelt sich über ungefähr die ersten drei Lebensjahre, bis es dem adulten Darmmikrobiom gleicht. Um frühe Einflussfaktoren im bäuerlichen Milieu auf die Entstehung von Asthma und Allergien und die Entwicklung des Darmmikrobioms zu untersuchen, haben wir eine Geburtskohorte in 5 Europäischen Ländern durchgeführt. In dieser PASTURE-Studie haben wir 1133 schwangere Frauen, von denen die eine Hälfte aktiv auf einem Bauernhof lebte, rekrutiert und haben die Entwicklung dieser Kinder bis zum 10. Lebensjahr weiter verfolgt. Unter anderem haben wir auch Stuhlproben von Kindern im Alter von 2 Monaten ($n = 744$) und von 12 Monaten ($n = 867$) gesammelt. Wir untersuchen derzeit, ob die Zusammensetzung des Darmmikrobioms von bäuerlichen Lebensstilfaktoren wie Aufenthalt im Stall und Konsum von Rohmilch abhängt und ob das Darmmikrobiom zum beobachteten Schutz vor Asthma und Allergien im bäuerlichen

Umfeld beiträgt. Es ist auch denkbar, dass die Reifung des Darmmikrobioms im bäuerlichen Milieu schneller vor sich geht und dass dies zum Schutz vor Asthma beiträgt, wie es kürzlich in der dänischen COPSAC-Geburtskohorte gezeigt worden ist (Stokholm et al. 2018).

Schlussbemerkung: Keine Frage der Hygiene

Unsere Vergleiche von Kindern, die auf einem bzw. nicht auf einem Bauernhof aufgewachsen sind, werden gern unter dem Schlagwort »Hygiene-Hypothese« verkauft – Hygiene im Sinne von »Wie oft wasche ich mir die Haare?«, »Wie oft schneide ich mir die Nägel?« oder »Wie oft sauge ich die Wohnung?« oder »Wie oft putze ich die Fenster?«. Aber die vorgestellten Studien haben nichts mit Hygiene zu tun. Bei den Studien im ländlichen Milieu ist nicht die häusliche Hygiene, sondern der Kontakt zu den Tieren, v. a. zu den Kühen, und zum Umfeld des Kuhstalls der entscheidende Punkt.

Wir haben 32 detaillierte Fragen zur persönlichen und zur häuslichen Hygiene in München im Rahmen der Geburtenkohorte PAULA gestellt. Tatsächlich gab es keinen Zusammenhang mit der Entwicklung von Asthma und allergischer Sensibilisierung (Weber et al. 2015).

Ausblick

Woran werden wir in Zukunft arbeiten? Natürlich würden wir gerne verstehen, welche Keime oder von ihnen produzierten Metaboliten (oder deren Kombination) im Stall den protektiven Effekt ausmachen könnten. Hier arbeiten wir mit Herrn Schloter, Direktor der Research Unit for Comparative Microbiome Analysis am Helmholtz Zentrum München, an einem gemeinsamen Projekt. Uns interessiert auch, was davon in die Nase gelangt und dort den Schutz bewirkt. Ist die Nase tatsächlich das entscheidende Organ in diesem Geschehen? Könnte man da ansetzen und in Modellen einen Schutz hervorrufen? Auch haben wir in Zusammenarbeit mit einer niederländischen Firma, die Milchprodukte herstellt, eine minimal behandelte Kuhmilch entwickelt, die wir im Rahmen einer Interventionsstudie auf den Schutz vor Asthma im Vergleich zu ultrahochtemperierter Milch (UHT-Milch, »H-Milch«) testen wollen.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt den zahlreichen Förderern unserer multizentrischen und bayerischen Projekte wie der Europäischen Kommission, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit. Aber ganz besonders geht mein Dank an mein Team, den zahlreichen Kolleginnen und Kollegen im In- und Ausland, die mitgedacht und mitorganisiert haben, und in besonderer Weise den Eltern und Kindern, die an unseren Studien beteiligt waren.

Im Beitrag genannte Studien

- ALEX (Allergy and Endotoxin Study): Protection against the development of atopy: relevant factors from farming environments. Literatur: Riedler, J., C. Braun-Fahrlander, W. Eder, M. Schreuer, M. Waser, S. Maisch, D. Carr, R. Schierl, D. Nowak, E. von Mutius & the ALEX Study Team. 2001. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. – *The Lancet*, 358(9288): 1129–1133.
- COPSAC (The Copenhagen Prospective Study on Asthma in Childhood). Literatur: Bisgaard, H. 2004. The Copenhagen Prospective Study on Asthma in Childhood (COPSAC): design, rationale, and baseline data from a longitudinal birth cohort study. – *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 93(4): 381–389.
- GABRIEL (A Multidisciplinary Study to Identify the Genetic and Environmental Causes of Asthma in the European Community). Literatur: Moffatt, M. F., I. G. Gut, F. Demenais, D. P. Strachan, E. Bouzigon, S. Heath, E. von Mutius, M. Farrall, M. Lathrop, W. O. C. M. Cookson & GABRIEL Consortium. 2010. A large-scale, Consortium-based genomewide association study of asthma. – *The New England Journal of Medicine*, 363(13): 1211–1221.
- GABRIEL-A (The GABRIEL Advanced Studies). Literatur: Genuneit, J., G. Büchele, M. Waser, K. Kovacs, A. Debinska, A. Boznanski, C. Strunz-Lehner, E. Horak, P. Cullinan, D. Heederik, C. Braun-Fahrlander, E. von Mutius & the GABRIELA Study Group. 2011. The GABRIEL Advanced Surveys: study design, participation and evaluation of bias. – *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 25(5): 436–447.
- PARSIFAL (Prevention of Allergy Risk factors for Sensitisation in children related to Farming and Anthroposophic Lifestyle). Literatur: Alfvén, T., C. Braun-Fahrlander, B. Brunekreef, E. von Mutius, J. Riedler, A. Scheynius, M. van Hage, M. Wickman, M. R. Benz, J. Budde, K. B. Michels, D. Schram, E. Üblagger, M. Waser, G. Pershagen & the PARSIFAL study group. 2006. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle – the PARSIFAL study. – *Allergy*, 61(4): 414–421.

PASTURE (Protection against Allergy Study in Rural Environments). Literatur: Von Mutius, E., S. Schmid & the PASTURE Study Group. 2006. The PASTURE project: EU support for the improvement of knowledge about risk factors and preventive factors for atopy in Europe. – *Allergy*, 61(4): 407–413.

PAULA (Perinatale Asthma Umwelt Langzeit Allergiestudie). Literatur: Weber, J., S. Illi, D. Nowak, R. Schierl, O. Holst, E. von Mutius & M. J. Ege. 2015. Asthma and the Hygiene Hypothesis. Does Cleanliness Matter? – *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191(5): 522–529.

Literatur

- Berger, I., R. Schierl, U. Ochmann, U. Egger, E. Scharrer & D. Nowak. 2005. Concentrations of dust, allergens and endotoxin in stables, living rooms and mattresses from cattle farmers in southern Bavaria. – *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 12(1): 101–107.
- Birzele, L. T., M. Depner, M. J. Ege, M. Engel, S. Kublik, C. Bernau, G. J. Loss, J. Genuneit, E. Horak, M. Schloter, C. Braun-Fahrlander, H. Danielewicz, D. Heederik, E. von Mutius & A. Legatzki. 2017. Environmental and mucosal microbiota and their role in childhood asthma. – *Allergy*, 72(1): 109–119.
- Debarry, J., H. Garn, A. Hanuszkiewicz, N. Dickgreber, N. Blümer, E. von Mutius, A. Bufe, S. Gatermann, H. Renz, O. Holst & H. Heine. 2007. *Acinetobacter Iwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(6): 1514–1521.
- Depner, M., M. J. Ege, M. J. Cox, S. Dwyer, A. W. Walker, L. T. Birzele, J. Genuneit, E. Horak, C. Braun-Fahrlander, H. Danielewicz, R. M. Maier, M. F. Moffatt, W. O. Cookson, D. Heederik, E. von Mutius & A. Legatzki. 2017. Bacterial microbiota of the upper respiratory tract and childhood asthma. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(3): 826–834.e13, doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.050.
- Ege, M. J., M. Mayer, A. C. Normand, J. Genuneit, W. O. Cookson, C. Braun-Fahrlander, D. Heederik, R. Piarroux & E. von Mutius for the GABRIELA Transregio 22 Study Group. 2011. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. – *New England Journal of Medicine*, 364(8): 701–709.
- Genuneit, J. 2012. Exposure to farming environments in childhood and asthma and wheeze in rural populations: a systematic review with meta-analysis. – *Pediatric Allergy and Immunology*, 23(6): 509–518.
- Herp, S. & B. Stecher-Letsch. 2019. Minimalismus: Wie uns einfache Modellsysteme helfen, Funktionen des Darmmikrobioms zu verstehen. – In:

- Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 111–118.
- Holbreich, M., J. Genuneit, J. Weber, C. Braun-Fahrländer, M. Waser & E. von Mutius. 2012. Amish children living in northern Indiana have a very low prevalence of allergic sensitization. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(6): 1671–1673.
- Illi, S., M. Depner, J. Genuneit, E. Horak, G. Loss, C. Strunz-Lehner, G. Büchele, A. Boznanski, H. Danielewicz, P. Cullinan, D. Heederik, C. Braun-Fahrländer, E. von Mutius & the GABRIELA Study Group. 2012. Protection from childhood asthma and allergy in Alpine farm environments – the GABRIEL Advanced Studies. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(6): 1470–1477.e6, doi: 10.1016/j.jaci.2012.03.013.
- Loss, G. J., M. Depner, A. J. Hose, J. Genuneit, A. M. Karvonen, A. Hyvärinen, C. Roudit, M. Kabesch, R. Lauener, P. I. Pfefferle, J. Pekkanen, J.-C. Dalphin, J. Riedler, C. Braun-Fahrländer, E. von Mutius, M. J. Ege & the PASTURE Study Group. 2016. The early development of wheeze. Environmental determinants and genetic susceptibility at 17q21. – *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193(8): 889–897.
- Normand, A.-C., B. Sudre, M. Vacheyrou, M. Depner, I. M. Wouters, I. Noss, D. Heederik, A. Hyvärinen, J. Genuneit, C. Braun-Fahrländer, E. von Mutius, R. Piarroux & the GABRIEL-A Study Group. 2011. Airborne cultivable microflora and microbial transfer in farm buildings and rural dwellings. – *Occupational & Environmental Medicine*, 68(11): 849–855.
- Riedler, J., C. Braun-Fahrländer, W. Eder, M. Schreuer, M. Waser, S. Maisch, D. Carr, R. Schierl, D. Nowak, E. von Mutius & the ALEX Study Team. 2001. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. – *The Lancet*, 358(9288): 1129–1133.
- Stein, M. M., C. L. Hrusch, J. Gozdz, C. Igartua, V. Pivniouk, S. E. Murray, J. G. Ledford, M. Marques dos Santos, R. L. Anderson, N. Metwali, J. W. Neilson, R. M. Maier, J. A. Gilbert, M. Holbreich, P. S. Thorne, F. D. Martinez, E. von Mutius, D. Vercelli, C. Ober & A. I. Sperling. 2016. Innate immunity and asthma risk in Amish and Hutterite farm children. – *New England Journal of Medicine*, 375(5): 411–421.
- Stokholm, J., M. J. Blaser, J. Thorsen, M. A. Rasmussen, J. Waage, R. K. Vinding, A. M. Schoos, A. Kunøe, N. R. Fink, B. L. Chawes, K. Bønnelykke, A. D. Brejnrod, M. S. Mortensen, W. A. Al-Soud, S. J. Sørensen & H. Bisgaard. 2018. Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. – *Nature Communications*, 9(1): 141, doi: 10.1038/s41467-017-02573-2.
- von Mutius, E. 2016. The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(3): 680–689.
- Weber, J., S. Illi, D. Nowak, R. Schierl, O. Holst, E. von Mutius & M. J. Ege. 2015. Asthma and the hygiene hypothesis. Does cleanliness matter? – *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191(5): 522–529.

Diskussion

M. Matern: Ich habe in Weihenstephan über die β -Glucuronidase promoviert, speziell in Abhängigkeit von der Erhitzungstemperatur bei molkereiüblichen Verfahren und bei ultrahoch-erhitzter Milch.³ Die Arbeit spielt sicher auch für Ihre Studien eine Rolle und ich sende sie Ihnen gerne zu.

M. Merrow: Vielen Dank, dass Sie die Schimmelpilze erwähnt haben. Die Frage geht auch an Frau Stecher und Herrn Haller: Haben Sie nicht Sorge, dass wir, wenn wir nur über Bakterien diskutieren, einen wichtigen Schlüssel zur Lösung des Problems übersehen? Es gibt sehr viele verschiedene Schimmelpilze im Darm- bzw. in jedem Mikrobiom des Menschen.

E. von Mutius: Ja, da bin ich ganz sicher. Ich habe nicht alle Daten gezeigt, die wir dazu haben, aber wir haben immer gesehen, dass *Eurotium* und *Penicillium* irgendwie bei den Assoziationen dabei waren. Mittlerweile arbeiten wir mit Kollegen zusammen, die Schimmelpilze anzüchten und damit Metabolite sozusagen auf Wunsch produzieren können. Das erlaubt uns in der Zukunft, die Wirkungsweise solcher Metabolite genauer zu untersuchen.

M. Merrow: Dennoch werden Schimmelpilze in vielen Studien zum Mikrobiom nicht berücksichtigt.

E. von Mutius: Das stimmt. Was wir aber zum Beispiel bisher überhaupt noch nicht untersucht haben, ist das Virom. Wir wollen es uns jetzt mit Kollegen aus den USA ansehen. Dazu ist noch sehr wenig bekannt und wir kommen da natürlich epidemiologisch auch irgendwann an unsere Grenzen. In so einer schier grenzenlosen Diversität das wirklich entscheidende Signal zu

finden, ist epidemiologisch irgendwann nicht mehr machbar. Wir können nur Hypothesen generieren und wir brauchen dann die Modelle, um sie zu testen. Wir haben Kollegen, mit denen wir in einem Mausmodell über Asthma arbeiten, und wir können die Schutzeffekte 1 : 1 reproduzieren. Wir sehen auch, dass im Mausmodell und bei den epidemiologischen Daten Vieles gemeinsam ist – so artifiziell manche dieser Modelle auch sind. Aber auch verschiedene Modelle mit verschiedenen Allergenen geben denselben Effekt. Manches lässt sich also schon ganz gut absichern und wir versuchen, mit den Kollegen in den USA da weiterzukommen. Aber ich kann nur sagen, dass die Mechanismen, die diesen Schutz bewirken, völlig unbekannt sind und dass sie offenbar nichts zu tun haben mit dem, was wir heute annehmen, z.B. mit regulatorischen T-Zellen oder Ähnlichem.

A. Rauwolf: Vor einigen Jahren hat man Allergien ganz stark mit Parasiten in Verbindung gebracht. Ich weiß nicht, ob das immer noch aktuell ist. Wenn Sie jetzt über den Bauernhof sprechen: Werden in diesen Studien Parasiten auch erfasst?

E. von Mutius: Ja, wir haben nach Behandlungen wegen Wurmbefall bei Kindern gefragt, aber ohne besonderes Ergebnis. Auch serologisch haben wir keine großen Effekte gesehen. Bei den Parasiten gibt es auch Unterschiede. Nach Studien aus Afrika oder Südamerika hat man tatsächlich den Eindruck, dass die Schistosomen und zwar speziell Schistosomeneier eine Rolle spielen. Man kennt heute bestimmte Lipide aus Schistosomeneiern, die man schon extrahiert hat und auf Allergie- und Asthmaprotektion im Mausmodell testet.⁴ Das hat aber mit unseren »normalen Bandwürmern« nicht viel zu tun.

3 Doruk, M. 1972. Über die Eigenschaften der β -Glucuronidase in Kuhmilch. – Dissertation, Technische Universität München.
Kiermeier, F. & M. Doruk. 1972. Zur Hitzeinaktivierung der β -Glucuronidase in Milch. – Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 150: 220–224.

4 Varyani, F., J. O. Fleming & R. M. Maizels. 2017. Helminths in the gastrointestinal tract as modulators of immunity and pathology. – American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology, 312 (6): G537–G549, doi: 10.1152/ajpgi.00024.2017.

C. Wurzbacher: Vor etwa drei Jahren hatte ich einen Vortrag von Jack Gilbert vom Microbiome Center der Universität von Chicago gehört, der ganz Ähnliches wie Sie bei Kindern herausgefunden hat, aber zum einen mit Hunden anstelle von Stallkontakt und zum anderen, wenn ein älteres Geschwisterkind im Haushalt war. War das bei Ihren Studien auch so?

E. von Mutius: Die Epidemiologie mit der sogenannten Hygiene-Hypothese hat mit dem Crowding, das heißt, dass große Familien eng aufeinander wohnen und es viele Geschwister gibt, angefangen. Dann kam die Haltung von Hunden dazu (nicht so sehr die von Katzen), danach kam die Frage nach Darminfektionen und Ähnlichem auf und schließlich kamen die Bauernhofstudien dazu. Es gibt eine großflächige Studie in den USA, die der Frage nachgegangen ist, wodurch eigentlich das Innenraummikrobiom bestimmt wird.⁵ Das Innenraummikrobiom hängt ganz klar von den Bewohnern ab, inklusive Insekten, inklusive Kindern und Hunden. Es gibt experimentelle Arbeiten, bei denen Staub aus einem Hundehaushalt in die Maus übertragen worden ist und es daraufhin ebenfalls zu Schutzeffekten und einem veränderten Darmmikrobiom gekommen ist.⁶ Die Kollegin meint, dabei spielt ein *Lactobacillus johnsonii* eine besondere Rolle – vielleicht, vielleicht auch nicht. Wo kann denn das Mikrobiom für den Menschen herkommen? Es kommt von der Pflanze, es kommt vom Tier, es kommt vom Boden und von anderen Leuten – da findet die Hauptexposition statt und in

diesem komplexen Bereich spielt sich das ganze Geschehen ab.

J. Bauer: Das war schon fast ein Schlusswort. Wir sind damit am Ende der Tagung angekommen und wenn ich in die Runde blicke, sehe ich bei dem einen oder anderen von Ihnen müde Augen. Das ist kein Wunder bei der Informationsflut, die wir heute erhalten haben. Es war aber keineswegs eine Flut in dem Sinn, dass diese etwas vernichtet hätte, sondern ganz im Gegenteil, auf uns sind neue, wertvolle Erkenntnisse und Anregungen eingeströmt. Vor allem für die jungen Leute muss es spannend gewesen sein, diese Ideen zu hören, um sie dann im Labor oder im Experiment, zum Beispiel bei Jugend forscht, partiell zu realisieren.

Am Ende des Rundgesprächs darf ich mich nochmals bei allen Vortragenden und bei Frau Deigele für die exzellente Organisation der Veranstaltung bedanken. Hiermit übergebe ich nun das Wort noch einmal an Frau Renner als Vorsitzende des Forums Ökologie.

S. Renner: Ihren Dank an alle Mitwirkenden möchte ich an dieser Stelle nochmal einen großen Dank an Sie beide, Frau von Mutius und Herr Bauer, anschließen für dieses außergewöhnlich gut zusammenhängende und in sich geschlossene Rundgespräch. Trotz der ungeheuren Diversität an Themen war immer ein Zusammenhang gegeben. Für mich als Außenstehende war klar erkennbar, wie dieses erst etwa zehn Jahre alte Gebiet dabei ist, seine Hypothesen zu entwickeln oder zum Teil schon zu testen, sei es in künstlichen Systemen wie einem 3D-gedruckten Boden oder einer keimfreien Maus, in die bekannte Bakterien eingebracht werden. Wie das Gebiet der Mikrobiomforschung sich derzeit zusammensetzt, davon haben wir heute einen Eindruck bekommen. Nochmals Dank und Ihnen allen nun einen guten Heimweg.

-
- 5 Barberán, A., R. R. Dunn, B. J. Reich, K. Pacifici, E. B. Laber, H. L. Menninger, J. M. Morton, J. B. Henley, J. W. Leff, S. L. Miller & N. Fierer. 2015. The ecology of microscopic life in household dust. – Proceedings of the Royal Society B, 282 (1814): 20151139, doi: 10.1098/rspb.2015.1139.
- 6 Lynch, S. V., R. A. Wood, H. Boushey, L. B. Bacharier, G. R. Bloomberg, M. Kattan, G. T. O'Connor, M. T. Sandel, A. Calatroni, E. Matsui, C. C. Johnson, H. Lynn, C. M. Visness, K. F. Jaffee, P. J. Gergen, D. R. Gold, R. J. Wright, K. Fujimura, M. Rauch, W. W. Busse & J. E. Gern. 2014. Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. – Journal of Allergy and Clinical Immunology, 134(3): 593-601.e12, doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.018.