



Stefanie Eyerich

Molekulare Signaturen zur besseren Unterscheidung Psoriasis und Ekzem – was wir von doppelt betroffenen Patienten lernen können

Stefanie Eyerich, Zentrum Allergie und Umwelt, Technische Universität und Helmholtz Zentrum München

Zusammenfassung

Molekulare Signaturen für komplexe, entzündliche Hauterkrankungen zu erstellen ist ein wichtiger Schritt zum besseren Verständnis der Pathogenese. Bisherige Versuche verlässliche Signaturen für Psoriasis und Ekzem zu erstellen scheiterten jedoch zumeist an den hohen inter-individuellen Unterschieden innerhalb der Patientenkohorten. In einer kürzlich erschienen Arbeit im *Science Translational Medicine* berichten Quaranta et al.¹ von einer einzigartigen Patientenkohorte anhand derer diese Problematik umgangen werden kann – Patienten, die von Psoriasis und Ekzem zeitgleich betroffen sind. Mittels dieser Kohorte konnten die Autoren klare Signaturen für beide Erkrankungen erstellen und die Wichtigkeit des Immunsystems in der Pathogenese unterstreichen. Anhand dieser Signaturen war es nun auch möglich eine Klassifikation zu entwickeln, die zuverlässig Psoriasis von Ekzem unterscheiden kann – ein wichtiger Schritt für Patienten mit unklarer Diagnose und ein erster Schritt in Richtung personalisierte Medizin im Bereich entzündliche Hauterkrankungen.

Schlüsselwörter: Psoriasis, Ekzem, molekulare Signatur, Diagnostik

Abstract

For a better understanding of the pathogenesis of complex, inflammatory skin diseases, molecular signatures represent an important tool. However until today, the establishment of reliable signatures for psoriasis and eczema was hampered by the high inter-individual differences in the patient cohorts investigated. Quaranta et al.¹ report in a recently published work in *Science Translational Medicine* about a unique patient cohort that overcomes these known obstacles – patients affected by psoriasis and eczema simultaneously¹. With this cohort, the authors could establish clear signatures for both diseases and underline the importance of the immune system in the pathogenesis. These signatures also allowed to establish a classifier that dissects psoriasis from eczema reliably – an important step for patients with uncertain diagnosis and a first step into personalized medicine in inflammatory skin diseases.

Keywords: psoriasis, eczema, molecular signature, diagnostics

Einleitung

Psoriasis und Ekzem repräsentieren die beiden häufigsten Erkrankungen im Formenkreis der entzündlichen Hauterkrankungen^{2,3}.

Betroffene Patienten erleiden eine deutliche Reduktion ihrer Lebensqualität, die mit Stigmatisierung, Schlafstörungen und Depression einher gehen. Zudem belasten diese

Erkrankungen das Gesundheitssystem aufgrund steigender Behandlungskosten und verursachen nicht bezifferbare volkswirtschaftliche Schäden durch häufigen Arbeitsausfall. In den letzten Jahren wurden vielfältige neue Therapien für beide Erkrankungen entwickelt. Jedoch waren die meisten Studien empirisch und beruhten nicht direkt auf neuesten Untersuchungen zur Pathologie der Erkrankung⁴. Da Psoriasis und Ekzem unterschiedlich und manchmal sogar gegensätzlich auf Therapieverfahren ansprechen ist es eine Grundvoraussetzung der personalisierten Medizin, die molekularen Mechanismen, die der Erkrankung zu Grunde liegen genauestens zu verstehen. Durch Einsatz von Techniken wie der Array basierten Genexpressionsanalyse konnten hier in den letzten Jahren deutliche Fortschritte im Verständnis der Pathogenese erzielt werden, jedoch ist dieses Verständnis bei weitem noch nicht komplett. Zudem wurden Erkrankungs-relevante Muster in diesen Genexpressionsstudien häufig durch hohe inter-individuelle Unterschiede maskiert.

Im Folgenden soll eine kürzlich in *Science Translational Medicine*¹ erschienene Studie vorgestellt werden, die durch Auswahl einer speziellen Kohorte von Patienten die bestehenden Nachteile von bisher durchgeführten Genexpressionsstudien zu umgehen versucht. Die ausgewählten Patienten sind gleichzeitig von Psoriasis und Ekzem betroffen^{1,5}. Somit kann eine Beeinflussung der Genexpression durch interindividuelle Unterschiede, wie zum Beispiel genetisches Profil, Umwelt und Lebensgewohnheiten ausgeschlossen werden. Diese spezielle Patientenkohorte ermöglicht es daher, spezifische Einblicke in die molekularen Vorgänge von Psoriasis und Ekzem zu

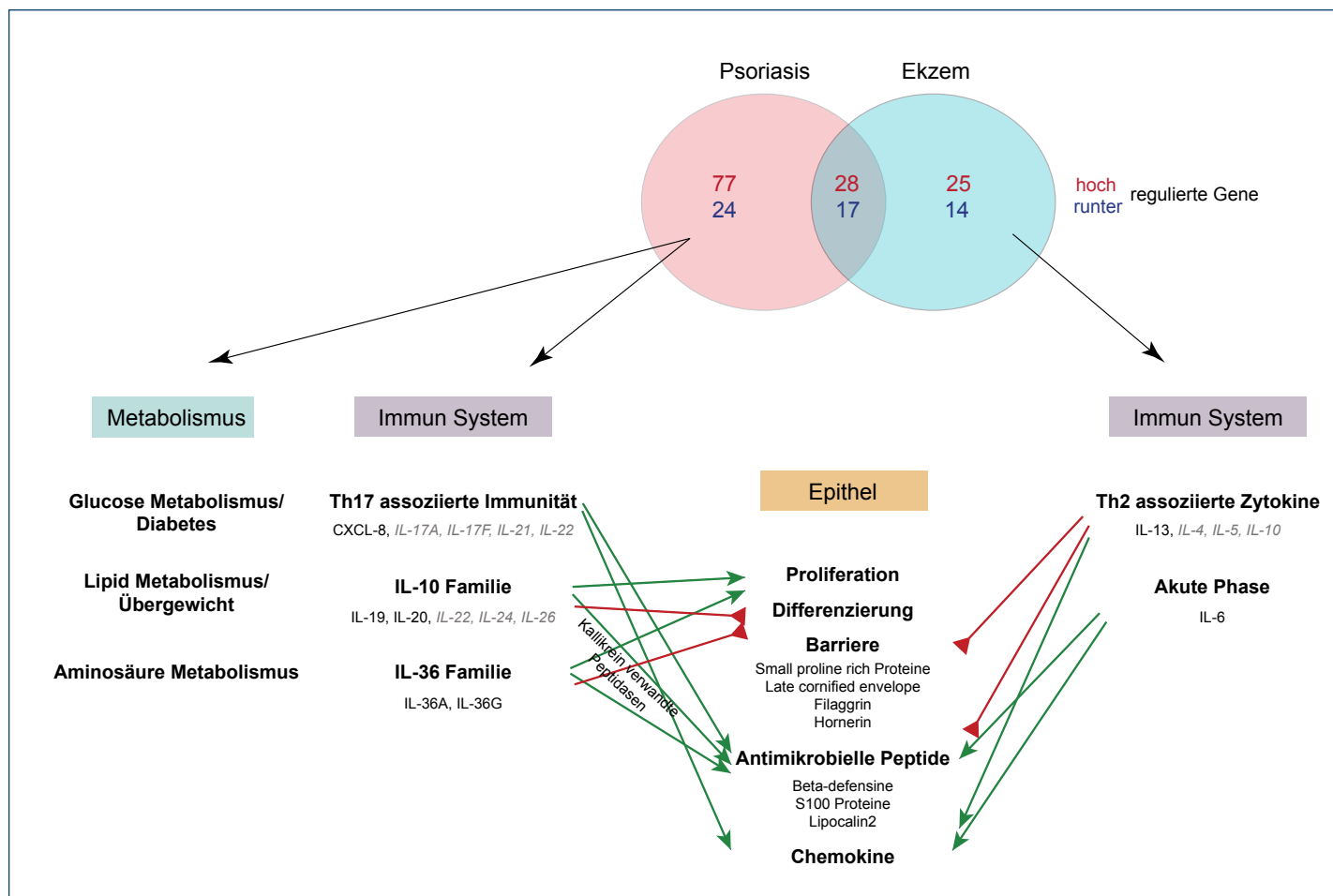


Abb. 1: Genregulation in Psoriasis und Ekzem

Genexpressionsarrays wurden von 24 Psoriasis Patienten, die zusätzlich von einem Ekzem (Atopisches Ekzem (n=6), nummuläres oder dishydratisches Ekzem (n=7), Allergische Kontaktdermatitis auf Nickel (n=11) betroffen waren durchgeführt. Im Venn-Diagramm oben sind alle regulierten Gene nach Normalisierung auf nicht betroffene Haut gezeigt. Der untere Teil der Abbildung gibt einen Überblick über einzelne regulierte Gene (schwarze Gen-Namen bedeuten signifikante Regulation, graue Namen eine vorhandene aber gegenüber der anderen Erkrankung nicht signifikante Regulation). Die grünen und roten Pfeile geben den aktivierenden beziehungsweise hemmenden Einfluss des Immunsystems auf das Epithel wieder. (Abbildung adaptiert aus Quaranta et al.¹⁾)

gewinnen und diese diagnostisch und therapeutisch nutzbar zu machen.

Material und Methoden

Patientenkohorten

Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden waren Erwachsene im Alter von 18 bis 60 Jahren mit der gesicherten Diagnose Psoriasis und/oder Ekzem für mindestens sechs Monate vor Biopsieentnahme. Ausschlusskriterien waren systemische und lokale Medikation vor Probenentnahme (Auswaschphase: sechs Wochen für systemische und zwei Wochen für lokale Therapie). Der klinische Schweregrad wurde anhand des PASI oder des SCORAD bestimmt. Die Intensität der Kontaktreaktion auf Nickel wurde

anhand gängiger Richtlinien dokumentiert⁵. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt und alle Patienten gaben ihre schriftliche Zustimmung.

Die zentrale Patienten Kohorte zur Analyse der Unterschiede zwischen Psoriasis und Ekzem bestand aus insgesamt 24 Psoriasis Patienten, die eine Ko-Existenz mit Atopischem Ekzem (n=6), mit nummulärem oder dishydratischem Ekzem (n=7) oder mit Allergischer Kontaktdermatitis auf Nickel (n=11) aufwiesen. Das Durchschnittsalter lag bei 45 ± 11 Jahren, alle Patienten waren Kaukasier, 33 Prozent männlich, 40 Prozent Raucher und der Durchschnitts Body Mass Index (BMI) lag bei 22,4 ± 4.8.

Die Kohorte zur Validierung und Testung der Klassifikation setzte sich aus Patienten mit der alleinigen Diagnose Psoriasis (n=25, Alter 47 ± 13, 41 % männlich) und oder Ekzem (n=28, Alter 35 ± 15, 38 % männlich) zusammen. Stanzbiopsien (6-mm) wurden unter lokaler Anästhesie aus läsionaler und nicht betroffener Haut entnommen.

Isolierung von RNA, Real time PCR und Genexpressions Array

Details zu den Methoden können in Referenz (1) eingesehen werden. In Kürze, Gesamt RNA wurde aus Biopsien läsionaler und nicht-betroffener Haut mittels des PAXgene Tissue Systems (Qiagen) isoliert. RNA Quantität und Qualität wurde mittels Nanodrop

und dem 2100 Bioanalyzer (Agilent Biosystems) bestimmt. Für Real time PCR wurden 500ng RNA in cDNA umgeschrieben und gewünschte Gensequenzen anhand des SYBR Green Master Mix (Roche Applied Sciences) amplifiziert. Die relative Genexpression wurde mittels der Formel $RQ=2^{-\Delta CT}$ bestimmt mit 18S als house keeping Gen.

Genexpressionsarrays wurden nach Vorgaben des Herstellers (Agilent Biosystems) durchgeführt. 25 ng RNA wurden mit Hilfe des Low Input Quick Amp Labeling kits (Agilent Biosystems) in cDNA umgeschrieben, amplifiziert, mit Cy3 Fluoreszenz markiert und auf den SurePrint G3 Human GE 8x60K Bead Chip (Agilent Biosystems) über Nacht hybridisiert. Nach dem Waschen des Arrays wurde die gebundene Fluoreszenz anhand des iScan Systems (Agilent Biosystems) detektiert und mit Hilfe der Agilent Feature Extraction Software ausgelesen. Zur Auswertung der Array Daten wurde die R Software und das Limma Paket von Bioconductor verwendet. Rohdaten wurden zunächst Hintergrund korrigiert und mit der cyclic loess Methode normalisiert. Alle normalisierten Signale mit einer Intensität kleiner 10 Prozent der 95 Perzentile der Negativkontrollen wurden herausgefiltert. Arrays aus läSIONALER Haut eines jeden Patienten wurden normalisiert auf nicht-betroffene Haut desselben Patienten. Regulation der Genexpression wurde mittels Log2 fold change Berechnungen ermittelt. Hier wurde ein fold change <2 mit einem p-Wert >0,05 als signifikant betrachtet.

Die Entwicklung einer Klassifikation

Gene, die spezifisch in Psoriasis oder Ekzem reguliert waren, wurden in die Entwicklung der Klassifikation eingeschlossen. Insgesamt konnten 15 Gene identifiziert werden.

Um die Klassifikation zu trainieren, wurde das R Paket „e1071“ verwendet. Normalität wurde anhand des Shapiro-Wilk Normalitätstest ($P=0,05$) bestimmt. Ein two-sample, two-sided Welch's test gefolgt von einer Bonferroni Korrektur wurde zur Bestimmung der differentiellen Expression verwendet. Die Gene mit der signifikantesten Regulation (CCL27, reprimiert, angepasster P-Wert= $5,31 \times 10^{-4}$ und NOS2, induziert, angepasster P-Wert= $1,53 \times 10^{-6}$) wurden für die Klassifikation ausgewählt. Die Klassifikation wurde trainiert mit einer C-Klassifikation anhand einer linearen Kernel-Funktion mit $C=1$. Hier wurde eine 10-fache Kross-Validierung genutzt.

Ergebnisse der Studie

Identifizierung von signifikanten Unterschieden zwischen Psoriasis und Ekzem

Patienten die an zwei unterschiedlichen entzündlichen Hauterkrankungen leiden wurden in die Studie eingeschlossen. Diese Patienten Kohorte setzte sich aus insgesamt 24 Psoriasis Patienten zusammen, die eine Ko-Existenz mit Atopischem Ekzem ($n=6$), mit nummulärem oder dishydrotischem Ekzem ($n=7$) oder mit Allergischer Kontaktdermatitis auf Nickel ($n=11$) aufwiesen. Biopsien wurden aus den beiden läSIONALen Hautarealen und nicht betroffener Haut entnommen. Gesamt RNA wurde isoliert und wie in den Methoden beschrieben auf einen Genexpressions Array hybridisiert. Dieser Array bildet die Gesamtheit in humanen Zellen exprimierter mRNA ab (27958 Sequenzen) und gibt zusätzlich Informationen über sogenannte nicht-codierende intergenische RNA (lincRNA (7419 Sequenzen)). In der Analyse der Arraydaten wurde ein intra-individueller Ansatz gewählt, das heißt

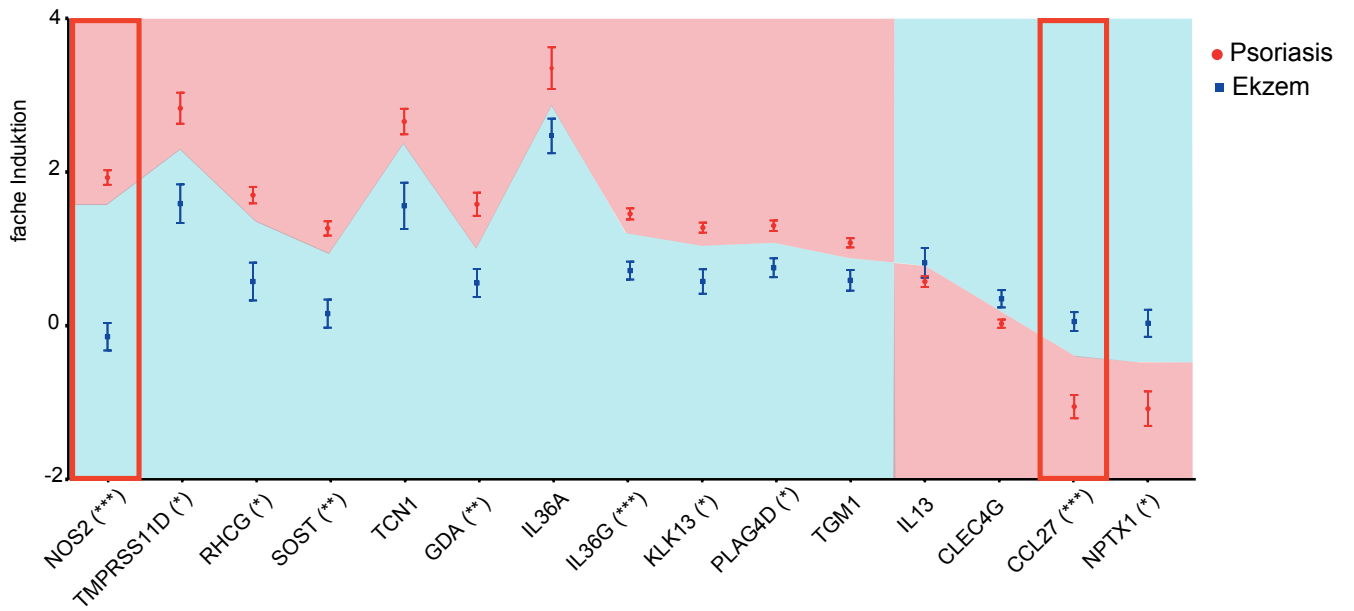
jedes Expressionsprofil der läSIONALen Haut wird gegen die nicht-betroffene Haut eines jeden Patienten abgeglichen und ein Log2 „Fold Change“ der Genexpression berechnet. Durch diese intra-individuelle Analyse verlieren sich unspezifische Expressionsmuster und Gene, die wesentlich für die Erkrankung sind, werden sichtbar.

Zunächst wurden diejenigen Gene evaluiert, die spezifisch in Psoriasis oder Ekzem exprimiert werden. Es zeigte sich, dass viele Gene konsistent in beiden Erkrankungen reguliert werden (28 hoch-, 17 Gene runterreguliert) (Abb. 1). 101 Gene waren spezifisch nur in der Psoriasis reguliert (77 hoch-, 24 runterreguliert) und 39 Gene spezifisch im Ekzem (25 hoch-, 14 runterreguliert).

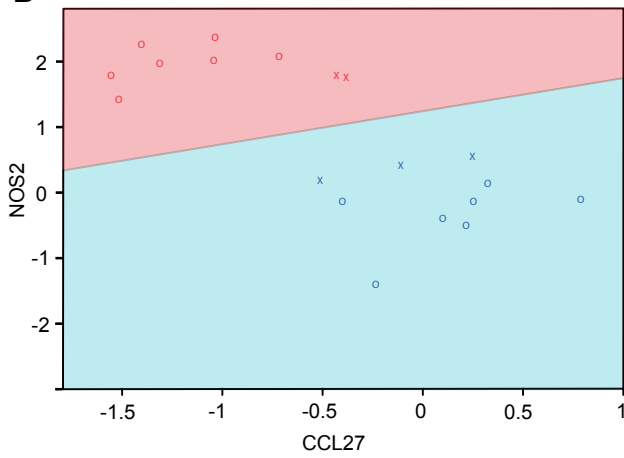
Drei Hauptkategorien der Gene

Gene, die spezifisch reguliert wurden, können in drei Hauptkategorien zusammengefasst werden: Immunsystem, Epithel, Metabolismus. Hierbei unterscheiden sich die regulierten Gene in den beiden Erkrankungen in der jeweiligen Kategorie. So sind zum Beispiel in der Psoriasis in der Kategorie „Immunsystem“ Gene der Th17 assoziierten Immunität, wie IL-17, IL-22, IL-21 und CXCL8, der IL-10 Familie (IL-19, IL-20) und der IL-36 Familie (IL-36A und IL-36G) zu finden wohingegen sich das Ekzem durch eine Expression von Th2 Zytokinen (IL-4, IL-5, IL-13) und dem Akute-Phase-Protein IL-6 auszeichnet. In der Kategorie „Epithel“ werden bei beiden Erkrankungen anti-mikrobielle Peptide signifikant hochreguliert. Allerdings ist hier die Expression in der Psoriasis deutlich prominenter als im Ekzem. Hierzu passend wurde eine erhöhte Expression von kallikrein-verwandten Peptidasen (KLK6, KLK9, KLK13), die bekanntermaßen an der Induk-

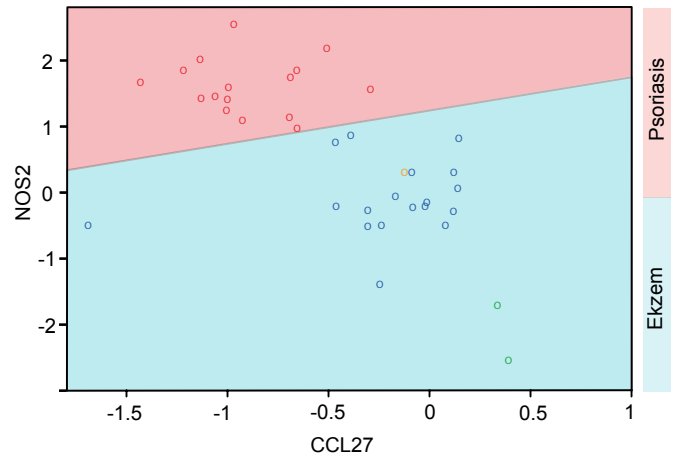
A



B



C



D

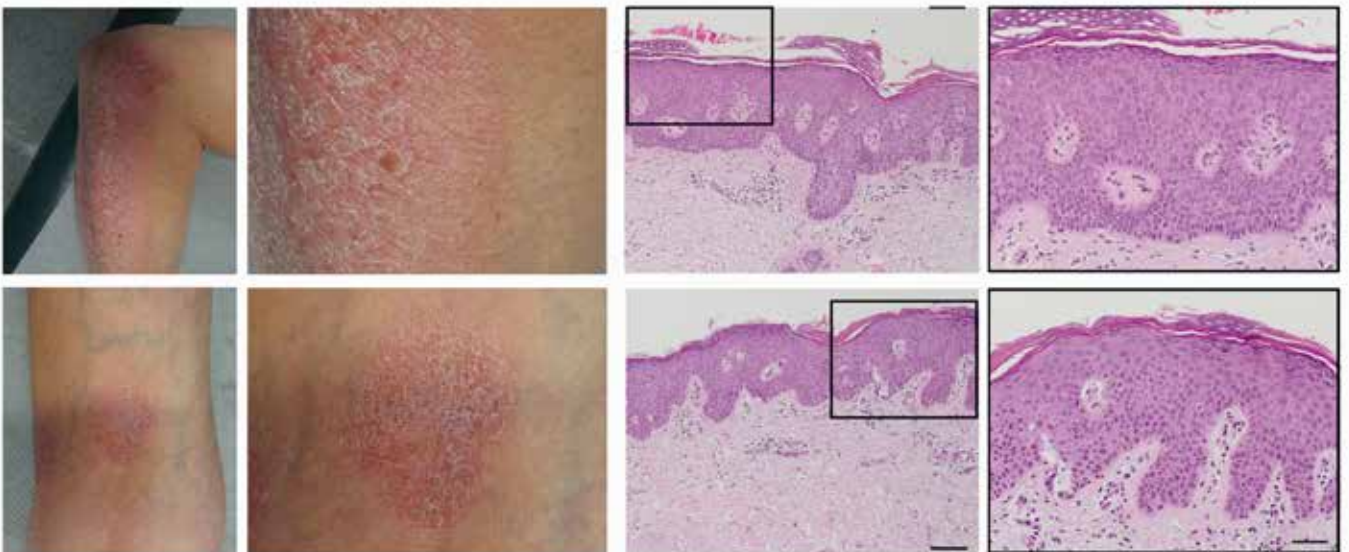


Abb. 2: Zwei Gene machen den Unterschied – NOS2 und CCL27 als Klassifikation für Psoriasis oder Ekzem

A) Real-time PCR Validierung von 15 Genen, die signifikant unterschiedlich in Psoriasis (n=9) und Ekzem (n=10) reguliert sind. Die Kurve gibt die cutoff Werte zwischen den beiden Gruppen und den jeweiligen Genen wieder.

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001.

B) Eine Klassifikation bestehend aus NOS2 und CCL27 trennt Psoriasis von Ekzem in einer Trainingskohorte bestehend aus 19 Patienten (Psoriasis n=9; Ekzem n=10). Kreuze zeigen die support Vektoren, Kreise zeigen die restlichen Daten des Trainingssets.

C) Effizienz der Klassifikation in einer unabhängigen Test Kohorte bestehend aus 34 Patienten (Psoriasis n=16, Ekzem n=18).

D) Patientin mit unklarer Diagnose. Die grünen Kreise in C) zeigen das Klassifizierungsergebnis dieser Patientin, der zwei Biopsien am Bein und in der Armbeuge, entnommen wurden.

(Abbildung adaptiert aus Quaranta et al.¹)

tion von anti-mikrobiellen Peptiden beteiligt sind, ausschließlich in der Psoriasis und nicht im Ekzem gefunden. Im Gegenteil hierzu, fand sich eine signifikant stärkere Repression von Filaggrin im Ekzem im Vergleich zur Psoriasis was einen Hinweis auf eine gestörte epitheliale Barriere gibt. In der Kategorie „Metabolismus“ finden sich Gene, die fast ausschließlich in der Psoriasis reguliert sind. Diese betreffen den Glucose-, Lipid- und Aminosäurestoffwechsel und deuten darauf hin, dass es sich bei der Psoriasis um eine metabolische Erkrankung handelt.

Zwei Gene reichen aus, um Psoriasis von Ekzem zu unterscheiden

Aus den in Abb.1 gezeigten Genen wurden diejenigen ausgewählt, die zwischen Psoriasis und Ekzem signifikant unterschiedlich reguliert sind. Insgesamt konnten 15 Gene identifiziert werden, die Psoriasis von Ekzem und umgekehrt abgrenzen können (Abb. 2A). NOS2 und CCL27 zeigten hier die signifikanteste Regulation mit einer erhöhten Expression von NOS2 in der Psoriasis und CCL27 im Ekzem. Um den Wert dieser 15 Gene für die Entwicklung einer Klassifikation, die Psoriasis von Ekzem unterscheiden kann, zu evaluieren wurde eine Kohorte von 19 Patienten (9 mit Psoriasis und 10 mit Ekzem) herangezogen, die jeweils nur an einer der genannten Erkrankungen leiden und deren Diagnose klinisch und histologisch gesichert war. Diese 19 Patienten wurden nun zum Trainieren der Klassifikation genutzt. Der Test aller möglichen Kombinationen der elf Psoriasis-spezifischen mit den vier Ekzem-spezifischen Genen zeigte die Kombination von NOS2 und CCL27 als höchst effizient in der Unterscheidung beider Erkrankungen auf (Abb. 2B). Diese Effizienz wurde nochmals an einer

unabhängigen Test Kohorte mit 16 Psoriasis und 18 Ekzem Patienten überprüft (Abb. 2C). Zusätzlich wurde die Potenz der Klassifikation an Patienten mit unklarer Diagnose getestet. Hier ein Fallbeispiel: Eine 53-jährige Patientin leidet seit mehreren Jahren an entzündlichen, stark juckenden Hautläsionen in der Armbeuge und an der Streckseite des Unterschenkels. Zusätzlich leidet die Patientin an einem allergischen Asthma und zeigt ein leicht erhöhtes Gesamt IgE (108 IU/ml). Die Familienanamnese ergibt eine Häufung von Psoriasis Erkrankungen. In der Histologie ergibt ein unklares Bild: die plumpe Akanthose, das partiell fehlende Stratum Granulosum und Parakeratose deuten eher auf eine Psoriasis hin. Dahingegen findet sich ein T-Zell Epidermotropismus, nur wenige Neutrophile und fehlende Mikroabzesse was wiederum die Diagnose Ekzem favorisieren würde. Biopsien von Arm und Bein wurden mit der Klassifikation getestet und ergaben mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 Prozent eindeutig die Diagnose Ekzem.

Diskussion

Psoriasis und Ekzem sind komplexe entzündliche Erkrankungen der Haut deren Pathogenese getrieben wird von genetischen Faktoren, der Umwelt und Dysbalancen im Immunsystem. Durch den Vergleich der Genexpression in läsionaler Haut können generelle Entzündungsrelevante Parameter von Erkrankungs-spezifischen Parametern in der einen oder anderen Erkrankung unterschieden werden. Bisherige Versuche Psoriasis und Ekzem zu vergleichen lieferten allerdings aufgrund der hohen inter-individuellen Unterschiede unterschiedliche und zum Teil inkonsistente Ergebnisse. In der hier vorgestellten Studie konnte diese Problematik

durch die Wahl einer einzigartigen Patientenkohorte umgangen werden. Die in die Studie eingeschlossenen Patienten sind von Psoriasis und Ekzem gleichzeitig betroffen. Somit ist eine Beeinflussung des läsionalen Genexpressionsprofils durch den genetischen Hintergrund, Umwelteinflüsse und Lebensstil nicht möglich. Die Veränderungen im Genexpressionsprofil sind somit allein durch einen lokalen Stimulus bedingt, der die Grundlage für ein Erkrankungs-spezifisches Mikromilieu bildet und somit zur Ausprägung des klinischen Phänotyps – Psoriasis oder Ekzem – führt.

Epidermale Integrität und das Immunsystem sind Merkmale

Anhand des generierten Genexpressionsdatensatzes konnten deutlich gezeigt werden, dass die epidermale Integrität und das Immunsystem wichtige Merkmale von Psoriasis und Ekzem darstellen. Allerdings finden sich in diesen beiden Merkmalen deutliche Unterschiede zwischen den beiden Erkrankungen. Während das Ekzem durch schwere Defekte in der epidermalen Verhornung und Barrierefunktion aufweist, zeichnet sich die Psoriasis durch eine gestörte epidermale Differenzierung aus. Ein Beispiel wäre hier die unterdrückte Expression von Filaggrin im Ekzem und die Induktion von Hornerin in der Psoriasis. Hierdurch wird das Konzept gestützt, dass eine Dysfunktion von Filaggrin eine Prädisposition für eine Ekzemerkrankung darstellt⁶ wohingegen Hornerin Expression mit einer Epithelialisierung nach Verletzung mit einer Psoriasis einhergeht⁷.

Der hier generierte Datensatz unterstreicht zudem den Stellenwert des Immunsystems in der Pathogenese von Psoriasis und Ekzem. Hier zeigt sich die Psoriasis dominiert von

Th17 assoziierten Zytokinen und Mitgliedern der IL-10- und IL-36 Zytokinfamilie. Dieses Zytokin Netzwerk generiert ein Mikromilieu in der Haut das den epidermalen Metabolismus und die Proliferation in Keratinozyten induziert sowie deren Differenzierung inhibiert. Somit findet in der Haut ein enger Austausch zwischen dem Immunsystem und dem epidermalen Kompartiment statt, der letztlich in einer Wundheilungs-ähnlichen Reaktion mündet und die Basis für die Psoriasis bildet.

Im Ekzem konnte die dominante Rolle von Th2 Zytokinen in der Pathogenese gezeigt werden. Dieser Zytokin-Cocktail führt zu einer Genrepression des epidermalen Differenzierungskomplexes (EDC)⁵ und Hemmung der Produktion von anti-mikrobiellen Peptiden in der Haut⁸. Somit kann ein Th2 dominiertes Mikromilieu die Funktion von Th17 Zytokinen in der Pathogen Abwehr nivellieren und die Besiedelung der Haut mit *Staphylococcus aureus* ermöglichen³.

Markante Unterschiede zwischen Psoriasis und Ekzem

Ein weiterer markanter Unterschied zwischen Psoriasis und Ekzem ist die Beteiligung von Metabolismus assoziierten Genen in der Psoriasis. Hier sind Gene zu nennen, die im Glukose-, Lipid- und Aminosäurestoffwechsel eine Rolle spielen. Anhand dieser Beobachtung kann die Assoziation der Psoriasis mit dem metabolischen Syndrom und kardiovaskulären Erkrankungen^{9,10} sogar in der Haut nachvollzogen werden. Ob nun diese Veränderungen im Metabolismus ähnlich wie die epithelialen Veränderungen durch das Immunsystem beeinflusst werden, bleibt noch zu klären.

In der täglichen klinischen Praxis ist es manchmal schwierig die verschiedenen

Varianten von Psoriasis und Ekzem zu unterscheiden, insbesondere wenn Handflächen oder Kopfhaut betroffen sind. Auf Basis unserer Untersuchungen konnte eine Klassifikation generiert werden, der anhand der Expression von nur zwei Markern, NOS2 und CCL27, die Diagnose Psoriasis oder Ekzem zuverlässig stellen kann. Diese beiden Gene sind so aussagekräftig, da sie in beiden Erkrankungen gegensätzlich reguliert sind und völlig unterschiedliche Funktionen haben. NOS2 ist involviert in vielfältige metabolische Prozesse¹¹ und spielt eine Rolle in der Th1 und Th17 dominierten Immunantwort¹². CCL27 hingegen ist einerseits ein Chemokin das CCR10+ T Zellen in die Haut lockt und andererseits eingebunden ist in die Regulation der epidermalen Entwicklung¹³.

Fazit

Die entwickelte Klassifikation erlaubt nun eine gesicherte Diagnosestellung und ist den bisherigen Goldstandards, wie klinische Evaluation und Histologie überlegen. Die Klassifikation ist patentiert und wird derzeit für seinen Einsatz als Routine-Diagnostikum evaluiert.

Literatur

1. M. Quaranta et al., Intraindividual genome expression analysis reveals a specific molecular signature of psoriasis and eczema. *Science translational medicine* 6, 244ra90 (Jul 9, 2014).
2. F. O. Nestle, D. H. Kaplan, J. Barker, Psoriasis. *The New England journal of medicine* 361, 496 (Jul 30, 2009).
3. T. Bieber, Atopic dermatitis. *The New England journal of medicine* 358, 1483 (Apr 3, 2008).
4. K. Eyerich, N. Novak, Immunology of atopic eczema: overcoming the Th1/Th2 paradigm. *Allergy* 68, 974 (Aug, 2013).

5. S. Eyerich et al., Mutual antagonism of T cells causing psoriasis and atopic eczema. *The New England journal of medicine* 365, 231 (Jul 21, 2011).
6. E. Guttman-Yassky et al., Broad defects in epidermal cornification in atopic dermatitis identified through genomic analysis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 124, 1235 (Dec, 2009).
7. M. Takaishi, T. Makino, M. Morohashi, N. H. Huh, Identification of human hornerin and its expression in regenerating and psoriatic skin. *The Journal of biological chemistry* 280, 4696 (Feb 11, 2005).
8. K. Eyerich et al., IL-17 in atopic eczema: linking allergen-specific adaptive and microbial-triggered innate immune response. *The Journal of allergy and clinical immunology* 123, 59 (Jan, 2009).
9. M. Malerba, P. Gisondi, A. Radaeli, G. Girolomoni, Psoriasis and risk of myocardial infarction. *Jama* 297, 361 (Jan 24, 2007).
10. P. Gisondi et al., Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a hospital-based case-control study. *The British journal of dermatology* 157, 68 (Jul, 2007).
11. J. R. Kanwar, R. K. Kanwar, H. Burrow, S. Baratchi, Recent advances on the roles of NO in cancer and chronic inflammatory disorders. *Current medicinal chemistry* 16, 2373 (2009).
12. H. Muhl, M. Bachmann, J. Pfeilschifter, Inducible NO synthase and antibacterial host defence in times of Th17/Th22/T22 immunity. *Cellular microbiology* 13, 340 (Mar, 2011).
13. M. Mildner et al., Epidermal CCL27 expression is regulated during skin development and keratinocyte differentiation. *The Journal of investigative dermatology* 134, 855 (Mar, 2014).

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Stefanie Eyerich
ZAUM – Zentrum Allergie und Umwelt
Technische Universität und Helmholtz
Zentrum München
Biedersteinerstraße 29
80802 München
E-Mail: stefanie.eyerich@lrz.tum.de