

Autoantigene des vernarbenden Pemphigoids und ihre pathogenetische Bedeutung

Zusammenfassung

Das vernarbende Pemphigoid (VP) umfaßt eine Gruppe von Patienten mit einer chronischen, subepidermal blasenbildenden Dermatose, welche primär die Schleimhäute betrifft; die Läsionen heilen charakteristischerweise unter Narbenbildung. Immunfluoreszenzuntersuchungen weisen lineare Ablagerungen von IgG und weniger oft von IgA entlang der Basalmembranzzone nach. Diesen Autoantikörpern wird eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Blasenbildung zugestanden. Der größte Teil der Patienten mit VP bindet das 180 kD schwere bullöse Pemphigoidantigen 2 (BPag2), Kollagen Typ XVII. Eine kleine Gruppe weist Autoantikörper gegen Laminin 5 auf. Die pathogenetische Relevanz der Autoantikörperbindung an diese Adhäsionsmoleküle (BPag2 und Laminin 5) konnte im Tiermodell bestätigt werden. Desweiteren werden bei kleineren Gruppen oder bei einzelnen Patienten mit VP Autoantikörper gegen meist nicht näher charakterisierte Antigene beschrieben. Die besprochenen Moleküle bilden den hemidesmosomalen Adhäsionskomplex. Es ist nachvollziehbar, daß bei gestörter Funktion einer der Komponenten die Separation der Epidermis von der Dermis resultiert; bessere Kenntnisse über die einzelnen Moleküle und die genaue Antikörperbindungsstelle könnten Rückschlüsse auf das klinische Bild zulassen.

Schlüsselwörter

Vernarbendes Pemphigoid · Autoantigene · Hemidesmosomaler Adhäsionskomplex · Kollagen Typ XVII · Laminin 5

Klinische Merkmale

Das vernarbende Pemphigoid (VP), früher wurde es auch „benignes“ Schleimhautpemphigoid genannt, ist eine seltene autoimmune, subepidermal blasenbildende Dermatose. Sie betrifft hauptsächlich ältere Menschen und etwas mehr Frauen als Männer [1]. Es wurde geschätzt, daß ca. 70 neue Fälle von VP pro Jahr in Frankreich auftreten [2]. Definitionsgemäß sind überwiegend die Schleimhäute, selten jedoch auch die Haut von der Blasenbildung betroffen. Die Läsionen heilen unter Narbenbildung ab, oft ist diese erst im Verlauf der Krankheit zu beobachten. Am häufigsten sind die Mundschleimhaut und die Augen betroffen [1]. Im Mund äußert sich das VP zumeist in Form einer desquamativen Gingivitis (Abb. 1) [3, 4]; die Augenveränderungen beginnen oft unspezifisch mit einer chronischen Konjunktivitis und führen erst im Verlauf der Krankheit zur Symblepharonbildung (Abb. 2). Grundsätzlich können alle Schleimhäute mit mehrschichtigen Plattenepithel wie der obere und untere Gastrointestinaltrakt, die Trachea und der äußere Urogenitaltrakt betroffen sein [5]. Die Krankheit verläuft chronisch, wobei eine Prognose bezüglich der funktionellen Einschränkungen schwer zu stellen ist. Sowohl ein blander Verlauf mit lediglich leichter Gingivitis ist denkbar als auch schwere Verläufe mit einschränkenden Organfunktionen durch die Narbenbildung, die zu Blindheit und lebensbedrohlichen Stenosen führen [1].

Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch muß an die autoimmunen, subepidermal blasenbildenden Dermatosen bullöses Pemphigoid (BP), lineare IgA-Dermatose (LAD) und Epidermolysis bullosa acquisita gedacht werden, die beiden letztgenannten gehen oft mit Narbenbildung einher [1]; auch der Pemphigus vulgaris mit intraepidermaler Blasenbildung beginnt oft in der Mundhöhle, bei der IF findet man jedoch interzelluläre Immunglobulinablagerungen [4]. Eine desquamative Gingivitis wird weiterhin beim Lichen ruber planus, bei der Kontaktstomatitis und Psoriasis vulgaris beobachtet [4].

Diagnosestellung

Um die Diagnose eines VP zu stellen sind folgende Befunde von Bedeutung: Das klinische Bild, die histologische Untersuchung einer frischen Blase, die Untersuchung periläsionaler Haut auf *in vivo* gebundene Autoantikörper mittels der direkten Immunfluoreszenz (IF) und die Untersuchung des Serums des Patienten auf zirkulierende Autoantikörper mittels der indirekten IF [6]. Feingeweblich findet man eine subepidermale Blase mit einem gemischten Infiltrat im Korium und um die Gefäße; elektronenmikroskopisch konnte ge-

Dr. Gudula Kirtschig
Department of Dermatology, Oxford Radcliffe
Hospital, The Churchill, Oxford OX3 7LJ, England

G. Kirtschig

Auto-antigens in cicatricial pemphigoid and their pathogenetic meaning

Summary

Cicatricial pemphigoid (CP) comprises a group of patients with a chronic subepidermal blistering disease which primarily involves mucous membranes; lesions characteristically heal with scarring. Immunofluorescence investigations typically demonstrate deposits of tissue bound and circulating immunoreactants of the IgG and less frequently of the IgA class in a linear pattern along the basement membrane zone. These autoantibodies are thought to play an important role in the blister formation of CP. Most patients show binding to the bullous pemphigoid antigen 2 (BPag2), collagen type XVII, with a molecular weight of 180 kD. A smaller group of patients with CP have autoantibodies to laminin 5. Animal models confirm that autoantibodies binding to these two adhesion molecules (BPag2 and laminin 5) are important in blister formation. There are other autoantigens described in CP; however, they are only found in small groups of CP patients and most of them are not further characterised. The described molecules are part of the hemidesmosomal adhesion complex. Impaired function of any component of this complex may lead to a separation of the epidermis from the dermis; better knowledge about the single molecules and the exact localisation of epitopes within these molecules may lead to further understanding of the clinical picture.

Key words

Cicatricial Pemphigoid · Autoantigens · Hemidesmosomal adhesion-complex · Collagen Type XVII · Laminin 5

zeigt werden, daß die Spaltbildung innerhalb der Lamina lucida (LL) stattfindet [1, 3, 5]. Bei der direkten IF-Untersuchung zeigen sich typischerweise lineare Ablagerungen von IgG oder C3 an der Basalmembran, weniger häufig findet man IgA, IgM und Fibrin [5]; die direkte IF ist bei 50–100% der Patienten positiv [7–9]. Zirkulierende anti-Basalmembranzonen (BMZ)-Antikörper sind ebenfalls meist von IgG-Typ, weniger häufig werden IgA- oder IgM-Autoantikörper beobachtet [5, 7, 8]. Die Nachweisrate wird in verschiedenen Studien zwischen 10 und 100% angegeben [5, 7, 9], diese großen Schwankungen könnte man sich folgendermaßen erklären: Zum einem wurden unterschiedliche Substrate verwendet [5, 6]. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn salzgespaltene menschliche Haut untersucht wird. Hierbei ist normale Haut auf der Höhe der LL gespalten, nachdem sie in 1M NaCl Lösung inkubiert wurde. Man nimmt an, daß durch diese Prozedur Antikörperbindungsstellen freigelegt werden. Intakte menschliche Haut oder Affenösophaugs haben sich als weniger gut erwiesen [5, 6]. Zum anderen kann das Ergebnis der IF durch den Entnahmezeitpunkt beeinflusst werden, d. h. es ist von Bedeutung ob der Patient bereits therapiert wird und wie aktiv die Krankheit ist; weiterhin könnten diese großen Schwankungen durch unterschiedlich selektionierte Patientengruppen bedingt sein.

Die meisten VP-Seren binden auf salzgespaltener Haut ein Antigen, welches an der epidermalen Seite des artefiziellen Spaltes liegt (Abb. 3) [5, 8, 10],

eine bestimmte Untergruppe von VP bindet ein Antigen an der dermalen Seite (Abb. 4) [8, 10, 11], wenige Seren binden Antigene an beiden Seiten des Spaltes [8, 10].

Pathomechanismus

Alle Proteine, denen man als Autoantigen eine Bedeutung bei der Entstehung des VP zuschreibt, sind Bestandteil des Adhäsionskomplexes zwischen Epidermis und Dermis (Abb. 5). Dieser Komplex besteht aus den epidermalen Hemidesmosomen (HD) (u. a. Plectin, BPAg1, BPAg2, $\alpha 6\beta 4$ Integrin), den die Epidermis und die Dermis verbindenden Ankerfilamenten (Laminin 5 und BPAg2) in der LL und den Ankerfibrillen (Kollagen Typ VII) auf der dermalen Seite. In Anbetracht der funktionellen Synergie dieser Proteine ist es nicht überraschend, daß die Autoantikörperbindung zu verschiedenen Antigenen zu dem gleichen phänotypischen Krankheitsbild führen kann.

Den Autoantikörpern gegen Antigene der BMZ wird eine pathogenetisch entscheidende Rolle bei der Blasenbildung zugestanden. Von Bedeutung sind Antikörper gegen extrazelluläre Teile der Antigene und zwei Hypothesen bezüglich der Blasenbildung werden diskutiert:

1. Es ist denkbar, daß eine Antigen-Antikörperbindung direkt zu einer Störung der Funktion des entsprechenden Adhäsionsmoleküls führt und sich somit die Epidermis von der darunterliegenden Dermis abhebt. Dies

Abb. 1 ▼ Desquamative Gingivitis bei vernarbendem Pemphigoid

Abb. 2 ▼ Konjunktivitis und Symblepharonbildung beim vernarbenden Pemphigoid



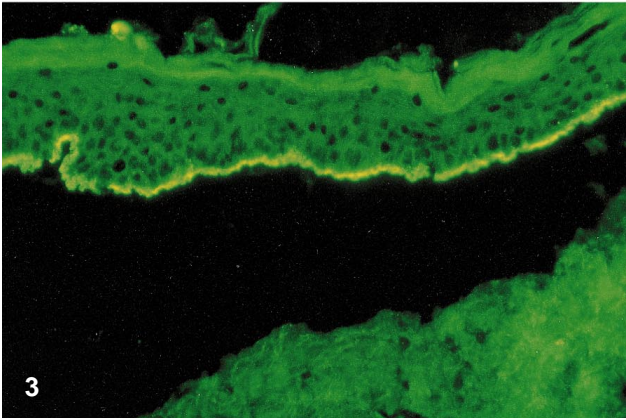


Abb. 3 ▲ Epidermal bindendes Serum eines Patienten mit Autoantikörpern gegen BP180 bei der indirekten Immunfluoreszenzuntersuchung

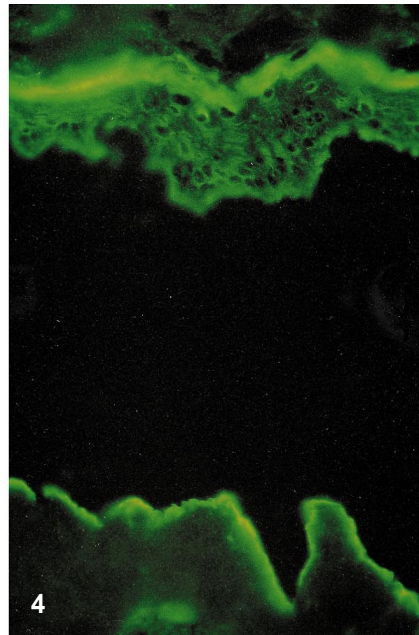


Abb. 4 ► Dermal bindendes Serum eines Patienten mit Autoantikörpern gegen die α -Kette von Laminin 5 bei der indirekten Immunfluoreszenzuntersuchung

trifft sehr wahrscheinlich für Patienten mit Autoantikörpern gegen Laminin 5 zu [12, 13].

2. Bei Patienten mit Autoantikörpern gegen BPag2 scheint die Aktivierung des Komplementsystems durch die Antikörperbindung von Bedeutung zu sein [14]. Eine anschließende inflammatorische Reaktion des subepithelialen Gewebes mit Invasion von Leukozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen und Digestion der LL durch proteolytische Enzyme würde dann ebenfalls zur Spaltbildung führen. Die anschließende Aktivierung und Hyperproliferation von Fibroblasten könnte für die Narbenbildung verantwortlich sein [15].

Antigene

Mehrere Proteine der BMZ werden von Autoantikörpern der Patienten mit VP gebunden (rot und orange markierte Antigene in Abb. 5, Tabelle 1). Zwei Zielantigene (rot markierte Antigene in Abb. 5) sind bereits näher charakterisiert und die pathogenetische Relevanz der Antigen-Antikörperbindung bei der Blasenbildung konnte in Tiermodellen bestätigt werden [12, 14]. Das erste dieser beiden näher charakterisierten Zielantigene ist das sog. bullöse Pemphigoid-Antigen 2 (BPag2), BP180 oder Kollagen Typ XVII [16]. Es wird von Autoantikörpern der Patienten mit BP und Pemphigoid (Herpes) gestationis

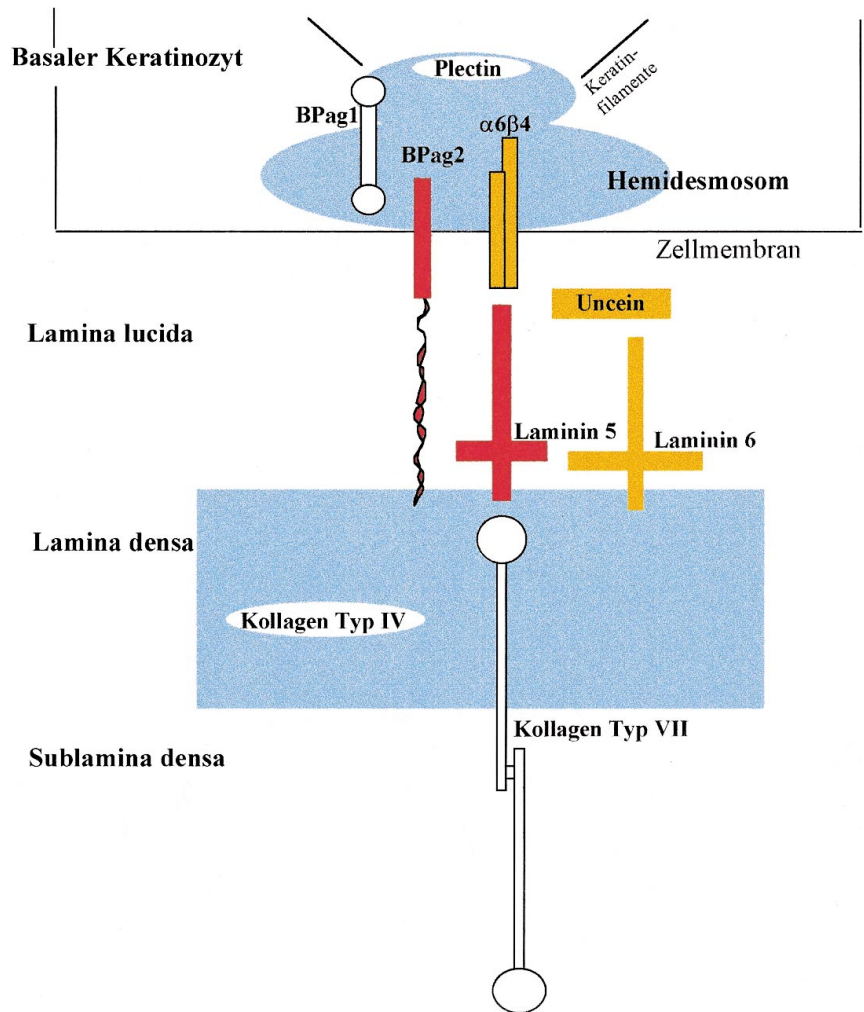


Abb. 5 ▲ Schematische Darstellung der Molekulanordnung in der Basalmembranzzone der Haut mit Betonung der für das vernarbende Pemphigoid relevanten Antigene (rot) und fraglich relevanten Antigene (orange)

Tabelle 1
Antigene des vernarbenden Pemphigoids

Antigen	MW	Lokalisation		Literatur
		SSS	ultrastrukturell	
BPag2 Kollagen XVII	180 kD	epidermal IgG > IgA	HD, LL/LD, Ankerfilamente	[14, 16–20]
Laminin 5	α 3: 200/165 kD β 3: 140 kD γ 2: 155/105 kD	dermal, IgG	LL/LD, Ankerfilamente	[11–13, 21–30]
Uncein?	165, 135, 100 kD	dermal, IgG	nu	[31–33]
Laminin 6?	600 kD (unter nicht reduzierenden Bedingungen)	dermal, IgG	nu	[34]
	α 3: 200/165 kD			[35]
?	120 kD	epidermal, IgG	nu	[8, 37, 38]
?	280 kD	?, IgA + IgG	IgA in LL	[38]
	265 kD	epidermal, IgG?	nu	[9]
α 6 β 4 Integrin?:				
?	168 kD	epidermal, IgG	nu	[41, 42]
?	60–70 kD	epidermal, IgG	nu	[43, 44]
Okuläres vernarbendes Pemphigoid				
β 4?	205 kD	epidermal, IgG	nu	[45, 46]
Keratin?	45 kD	epidermal, IgA	nu	[47, 48]

MW, Molekulargewicht in kilo-Dalton (kD); SSS, salzgespaltene Haut (meist 1M NaCl); HD, Hemidesmosom, LL, Lamina lucida; LD, Lamina densa; nu, nicht untersucht (wurde die ultrastrukturelle Antikörper-Bindung in den entsprechenden Berichten); ?, die genannten Proteine sind als Zielantigene noch nicht sicher identifiziert

(PG) und einer bestimmten Gruppe von Patienten mit VP gebunden [17]. Das BPag2 befindet sich bei IF Untersuchungen auf salzgespaltener Haut an der epidermalen Seite des Spaltes (Abb. 3). Ultrastrukturell lokalisieren die Autoantikörper der Patienten es unterhalb der HD in der LL und im oberen Teil der LD [18]. Es kann in epidermalen Haut- und kultivierten Keratinozyten-extrakten nachgewiesen werden und hat ein MW von 180 kD (Abb. 6) [17]. Neuere Untersuchungen sprechen dafür, daß dieses transmembranöse Protein Bestandteil der HD ist und ein langer extrazellulärer Anteil die Ankerfilamente zusammen mit Laminin 5 bildet [16, 18, 19]. Die Autoantikörper beim BP und PG binden hauptsächlich eine Antigenbindungsstelle (Epitop) in der Nähe der Zellmembran (NC16a-Epitop) [16] und die des VP ein Epitop nahe der LD im carboxyterminalen Bereich des Proteins [18, 20]. Es ist denkbar, daß diese unterschiedlichen Bindungsstellen Rückschlüsse auf das klinische Bild, d. h. die Vernarbung beim VP zulassen. Daß die Antikörper bei der Blasenbil-

dung eine entscheidende Rolle spielen, konnte an neugeborenen Mäusen gezeigt werden, denen Antikörper gegen die vergleichbare murine NC16a-Domäne injiziert wurden. Sie entwickelten eine blasenbildende Dermatitis, welche dem BP ähnelte [14].

Das zweite gut charakterisierte Antigen, welches bei der Entstehung des VP des bedeutsam zu sein scheint, ist **Laminin 5** (Nicein, Kalinin, Epiligrin, BM600). Dieses Protein wurde erstmals 1992 in Zusammenhang mit VP gebracht, inzwischen sind ca. 20 Patienten mit Autoantikörpern gegen Laminin 5 beschrieben [11, 21–24], wobei das klinische Bild nicht ganz einheitlich ist [25]. Es ist nicht ausgeschlossen, daß unterschiedliche Phänotypen mit Autoantikörperbindung zu unterschiedlichen Ketten des Proteins verbunden sind [25]. Laminin 5 ist eine Lamininvariante, die aus 3 kreuzförmig angeordneten Ketten (α 3, β 3, γ 2) besteht [26]. Es ist in der LL und oberen LD lokalisiert, gebenenüber den HD und ist wahrscheinlich am Aufbau der Ankerfilamente beteiligt (Abb. 7) [13, 27]. Es verbindet die

basalen Keratinozyten mit der darunterliegenden Dermis über das hemidesmosomale Adhäsionsmolekül Integrin α 6 β 4 auf der einen Seite und Kollagen Typ VII, Hauptbestandteil der Ankerfibrillen, auf der anderen Seite (Abb. 5) [28, 29]. Unter nicht reduzierenden Bedingungen hat es je nach Antigenquelle ein MW von ca. 460 bzw. 400 kD. Unter reduzierenden Bedingungen (nach Spaltung der Disulfidbrücken) können die einzelnen Ketten des Moleküls mit einem MW von 200 (α 3), 140 kD (β 3) und 155 (γ 2) in der extrazellulären Matrix kultivierter menschlicher Keratinozyten und von 165 (α 3), 140 kD (β 3) und 105 (γ 2) in Kulturmedium nachgewiesen werden (Abb. 8) [30]. Die Autoantikörper der Patienten mit dieser speziellen Form des VP binden Laminin 5 an der dermalen Seite salzgespaltener Haut (Abb. 4). Immunoblotuntersuchungen zeigen, daß die IgG-Autoantikörper die α 3-Kette des Proteins binden [21]. Die Autoantikörper gegen dieses Protein scheinen ebenfalls von entscheidender Bedeutung für die Blasenbildung zu sein. Kaninchenantikör-

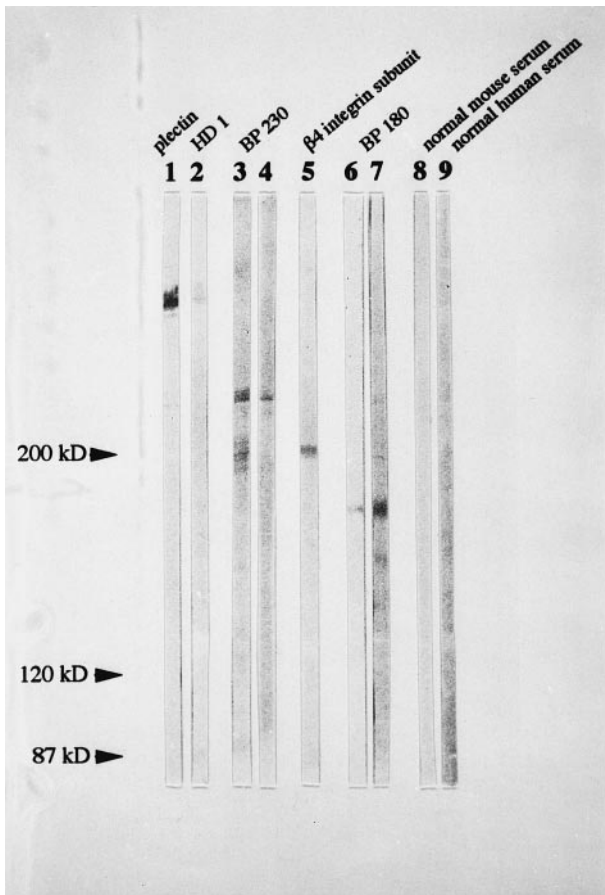


Abb. 6 ▲ Immunoblot eines epidermalen Extrakts, welcher die hemidesmosomalen Komponenten Plectin/HD1 (1, 2), BPag230 (3, 4), β 4 Untereinheit des α 6 β 4 Integrins (5), BPag180 (6, 7), normales Mausserum (8) und normales menschliches Serum (9) zeigt. Die Migration der Molekulargewichtsmarker ist am linken Rand markiert (200 kD, 120 kD, 87 kD)

per, die gegen Laminin 5 gerichtet sind, wurden in neugeborene Mäuse injiziert, dies führte zu einer blasenbildenden Dermatose der Haut und Schleimhäute [12]. Es ist noch nicht untersucht, an welchem Ende der α 3-Kette die Antikörper binden; dies wird weitere Erkenntnisse über die Bedeutung der Lokalisation der Antigen-Antikörper-Interaktion innerhalb der Basalmembranzone im Hinblick auf die Narbenbildung erbringen.

Die folgenden Antigene wurden nur bei kleineren Gruppen oder einzelnen Patienten mit VP beobachtet und sind zumeist nicht weiter charakterisiert:

Uncein, ein Molekül, welches durch den monoklonalen Antikörper 19-DEJ-1 definiert ist [31], wurde als Zielantigen bei einem Patienten mit VP vermutet [32]. Uncein ist in der LL lokalisiert und besteht aus 3 Ketten mit einem MW von 165, 130 und 100 kD. Dieses Bandenmuster erinnert sehr an die Zusammensetzung

von Laminin 5. Zeng et al. zeigten, daß Uncein biochemische Gemeinsamkeiten mit Laminin 5 (Kalinin) hat und an den Ankerfilamenten lokalisiert ist [33]. Weitere Untersuchungen werden klären, ob es ein distinktes Protein ist oder dem bereits besprochenen Laminin 5 entspricht.

Autoantikörper gegen **Laminin 6** und Laminin 5 wurden bei Patienten mit VP von Chan et al. und Lazarova et al. beschrieben [34, 35]. Laminin 6 (α 3, β 1, γ 1) ist Bestandteil der epidermalen Basalmembranzone. Es ist wie Laminin 5 eine Lamininvariante, deren α -Kette der von Laminin 5 (α 3) entspricht, die β - und γ -Ketten hat es mit Laminin 1 (β 1 und γ 1) gemein [36]. Das von Chan et al. untersuchte Serum präzipitiert unter nicht reduzierenden Bedingungen ein großes Polypeptid von 600 kD (Laminin 6) und etwas schwächer eines mit 400 kD (Laminin 5). Unter reduzierenden Bedingungen, d. h. wenn die einzelnen Ketten getrennt sind, findet keine

Antigenbindung statt [34]. Somit kann nicht sicher gesagt werden, welche Kette der Moleküle gebunden wird, theoretisch könnte es sich um die gemeinsame α 3-Kette handeln. Lazarova et al. konnte bei 6 Patienten die Autoantikörperbindung zur α 3-Kette von Laminin 5 und Laminin 6 nachweisen [35]. Die pathogenetische Bedeutung der Autoantikörperbindung an Laminin 6 ist bisher nicht geklärt.

Die Antikörperbindung zu einem 120 kD schweren Polypeptid wurde immer wieder beschrieben [8, 37, 38]. Chan et al. wiesen darauf hin, daß auch Seren von Patienten mit BP und sogar Seren hautgesunder freiwilliger Antikörper gegen ein 120-kD-Antigen aufweisen [8]. Untersuchungen im Rahmen der LAD und des BP zeigen, daß ein Polypeptid mit einem MW von 120 kD eine immunologische Kreuzreaktivität mit dem BPag2 aufweist und entlang der Ankerfilamente lokalisiert ist [39, 40]. Ob das beim VP auftretende 120 kD mit dem BPag2 identisch ist, muß weiter geklärt werden.

Zwei Polypeptide mit recht hohem MW wurden bei jeweils einem Patienten mit VP beschrieben [9, 38]. Sie haben ein MW von 280 kD bzw. 265 kD und werden von IgA und IgG Autoantikörpern gebunden. Neben den 280-kD-Antigen bindet das eine dieser VP Seren noch weitere Polypeptide mit einem MW von 165 (= BPag2) und 120–130 kD [38]. Bisher folgten keine Berichte über weitere Merkmale der beiden Polypeptide.

Autoantikörper bei Patienten mit VP gegen beide Untereinheiten des **α 6 β 4-Integrins** werden von verschiedenen Gruppen diskutiert. Es wurden mehrere Autoantigene beschrieben, die die einzelnen Ketten des Moleküls oder auch Spaltprodukte dieser darstellen könnten (165 kD, 60/70 kD, 205 kD, 45 kD) [41–47]. Das MW der α 6-Kette beträgt ca. 150 kD, im Immunoblot wird sie gelegentlich als Spaltprodukte von 120/130 kD und 30/20 kD vorgefunden. Die β 4-Untereinheit hat ein MW von ca. 205 kD, migriert jedoch auch als 180 kD und 150 kD schweres Polypeptid. Das α 6 β 4-Integrin ist Bestandteil der HD und Ligand für Laminin 5. Es hat eine wichtige Signalfunktion für die Übertragung von intrazellulären als auch extrazellulären Informationen [28]. Gegen die Bedeutung dieses Proteins bei

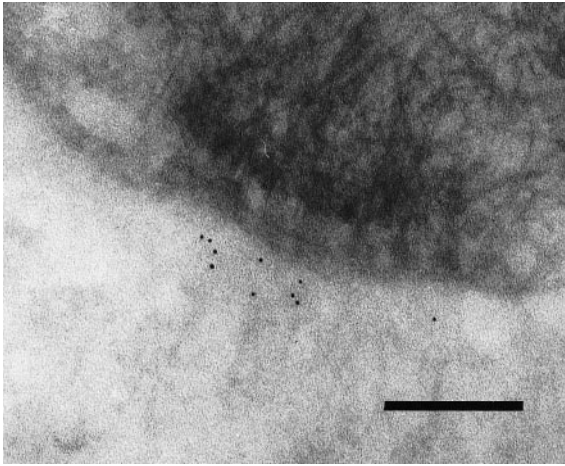


Abb. 7 ▲ Immunelektronenmikroskopische („postembedding immunogold“) Darstellung des hemidesmosomalen Adhäsionskomplexes mit Markierung der Ankerfilamente in der Lamina lucida mittels des monoklonalen Antikörpers SE85, welcher die $\alpha 3$ Kette von Laminin 5 bindet (Balken = 150 nm)

der Pathogenese des VP spricht, daß es sehr hoch in der BMZ liegt. Allerdings könnte man sich auch vorstellen, daß bei der Autoantikörperbindung Signale entstehen, die zu Veränderungen tiefer gelegener Strukturen führen.

Ein 168 kD schweres Molekül wurde bei 6 Patienten als Autoantigen beschrieben, es wird spekuliert, ob es sich um die $\alpha 6$ -Untereinheit des Integrins handelt [41, 42]. Autoantikörper dieser Patienten binden die epidermale Seite salzgespaltener Haut. Die Autoren beschreiben, daß dieses Protein besser in Extrakten aus Mundschleimhaut nachgewiesen werden kann als in Hautextrakten. Damit greifen sie die Hypothese auf, daß manche Proteine unterschiedlich in den verschiedenen Geweben verteilt sind, was die Verteilung der Läsionen bei den verschiedenen blasenbildenden Dermatosen erklären könnte. Das heißt, daß bestimmte Proteine verstärkt in Schleimhäuten exprimiert sind und daher bei Autoantikörperbildung gegen diese Antigene die entsprechenden Gewebe stärker betroffen sind. Ein 60–70 kD schweres Molekül wurde von Bhol et al. bei einer unbestimmten Anzahl von Patienten mit VP beschrieben [43, 44]. Dieses Molekül soll besonders gut in Rinderschnauzenextrakten nachweisbar sein. Aufgrund von Komigrationsuntersuchungen wird angenommen, daß es sich ebenfalls um die $\alpha 6$ -Untereinheit des $\alpha 6\beta 4$ -Integrins handelt. Der gegen die $\alpha 6$ -Untereinheit gerichtete monoklonale Antikörper (BQ16) bindet ein

Protein mit ca. 150 kD und ca. 70 kD, entsprechend des MWs dem von VP Seren gebundenen Moleküls.

Bei einer möglichen Sonderform des VP, dem **okulären VP**, wurden 2 distinkte Antigene beschrieben. Das erste ist ein 205 kD schweres Protein, welches neben anderen Polypeptiden (230, 160, 85 kD) bei einer Gruppe von 11 Patienten beschrieben wurde [45]. Es ist an der epidermalen Seite salzgespaltener Haut lokalisiert und kann in epidermalen und konjunktivalen Extrakten bei Immunoblotting-Untersuchungen nachgewiesen werden. Kontrollseren von Patienten mit BP binden dieses Protein nicht. Tyagi et al. konnten mit Hilfe der IgG-Autoantikörper der Patienten einen cDNA-Klon isolieren, der kodierende Sequenzen für die zytoplasmatische Domäne der $\beta 4$ -Untereinheit des hemidesmosomalen $\alpha 6\beta 4$ -Integrins enthält [46]. Daß Autoantikörper gegen diesen intrazellulären Teil des Proteins von initialer pathogenetischer Bedeutung sind, ist eher unwahrscheinlich, eventuell entstehen sie erst im Verlauf der Krankheit, wenn z. B. ein Schaden an der Zellmembran entstanden ist und somit das Molekül exponiert ist. Es ist jedoch durchaus denkbar, daß bei diesen Patienten zusätzlich Antikörper gegen pathogenetisch relevante extrazelluläre Teile der $\beta 4$ -Untereinheit vorhanden sind und somit dieses Integrin bedeutsam bei der Entstehung des VP ist.

Das zweite Polypeptid, welches bei 7 Patienten mit okulärem VP beschrieben wurde, ist ein Molekül von 45 kD

[47]. Es wird von IgA-Autoantikörper gebunden und ist an der epidermalen Seite salzgespaltener Haut lokalisiert. Die Autoren erwarteten, daß es sich um ein Polypeptid eines größeren Moleküls handelt. Es bestehen jetzt Hinweise, daß es sich um ein Keratin handelt. Die pathogenetische Bedeutung ist fragwürdig [48].

Schlußfolgerungen

Es spricht vieles dafür, daß Autoantikörper gegen Kollagen Typ XVII und Laminin 5 zur Blasenbildung beim VP führen. Daß Laminin 5 und BPag2 von größter Bedeutung für die Integrität der dermoepidermalen Junctionszone sind zeigen auch Untersuchungen an genetisch bedingten blasenbildenden Dermatosen. Bei der junctionalen Form der Epidermolysis bullosa besteht eine Blasenbildung auf der Höhe der LL. Die Läsionen heilen unter Narbenbildung ab. Die genannten Proteine sind bei den Patienten dieser Krankheitsgruppe nicht exprimiert und es bestehen Mutationen der zugehörigen Gene [28, 49].



Abb. 8 ▲ Immunoblot eines Extraktes der extrazellulären Matrix kultivierter menschlicher Keratinozyten mit Darstellung der 5 Ketten von Laminin 5 mittels eines polyklonalen Antikörpers

Das Niveau der Antigen-Antikörper-Interaktion könnte bei den autoimmun blasenbildenden Dermatosen von phänotypischer Bedeutung sein, denn beim bullösen Pemphigoid mit Antikörpern gegen das hemidesmosomale BPag1 besteht keine Narbenbildung; während bei der Epidermolysis bullosa acquisita mit Antikörpern gegen Kollagen Typ VII, Hauptbestandteil der Ankerfibrillen, Narben entstehen. Da von Laminin 5 gezeigt wurde, daß es mit Kollagen Typ VII interagiert und die Autoantikörper gegen das BPag2 beim VP ein Epitop nahe der LD binden, spricht einiges dafür, daß die Lokalisation des Epitops hinsichtlich der Narbenbildung von Bedeutung ist. Epitopmapping-Untersuchungen an Laminin 5 werden diese Frage möglicherweise beantworten.

Die abgebildete immunelektronenmikroskopische Untersuchung und der Immunoblot des hemidesmosomalen Komplexes wurden von der Autorin in Zusammenarbeit mit James McMillan im Labor von Prof. RAJ Eady in London durchgeführt. Der monoklonale Antikörper gegen die α_3 Kette wurde freundlicherweise von D. Aberdam aus Nice, Frankreich und der polyklonale Antikörper von M.P. Marinkovich, Stanford, USA, zur Verfügung gestellt. Mein besonderer Dank gilt Dr. Luca Borradori, Hôpital Cantonal Universitaire, Genf, Schweiz, für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Literatur

- Wojnarowska F, Briggaman RA (1990) **Management of blistering diseases.** Chapman & Hall, London, pp 83–138
- Bernard Ph, Vaillant L, Labeille B, Bedane C, Arbeille B, Denoex JP, Lorette G, Bonnetblanc JM, Prost C (1995) **Incidence and distribution of supepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions.** Arch Dermatol 131:48–52
- Ahmed AR, Kurgis BS, Rogers RS III (1991) **Cicatricial pemphigoid.** J Am Acad Dermatol 24:987–1001
- Nisengard RJ, Rogers RS III (1987) **The treatment of desquamative gingival lesions.** J Periodontol 58:167–172
- Mutasim DF, Pelc NJ, Anhalt GJ (1993) **Cicatricial pemphigoid.** Dermatol Clin 11:499–510
- Kirtschig G, Wojnarowska F (1994) **Auto-immune blistering diseases: an up-date of diagnostic methods and investigations.** Clin Exp Dermatol 19:97–112
- Fine JD, Neises GR, Katz SI (1984) **Immunofluorescence and immunoelectron microscopic studies in cicatricial pemphigoid.** J Invest Dermatol 82:39–43
- Chan LS, Yancey KB, Hammerberg C, Soong HK, Regezi JA, Johnson K, Cooper KD (1993) **Immune-mediated subepithelial blistering diseases of mucocutaneous membranes.** Arch Dermatol 129:448–455
- Sarret Y, Hall R, Cobo LM, Thivolet J, Patton DL, Woodley DT (1991) **Salt-split human skin substrate for immunofluorescence screening of serum from patients with cicatricial pemphigoid and a new method of immunoprecipitation with IgA antibodies.** J Am Acad Dermatol 24:952–958
- Fine JD (1985) **Cicatricial pemphigoid, bullous pemphigoid, and epidermolysis bullosa acquisita antigens: differences in organ and species specificities and localization in chemically-separated human skin of three basement membrane antigens.** Coll Rel Res 5:369–377
- Domloge-Hultsch N, Gammon WR, Briggaman RA, Gil SG, Carter WG, Yancey KB (1992) **Epiligrin, the major human keratinocyte integrin ligand, is a target in both an acquired autoimmune and an inherited subepidermal blistering skin disease.** J Clin Invest 90:1628–1633
- Lazarova Z, Yee C, Darling T, Briggaman RA, Yancey KB (1996) **Passive transfer of anti-laminin 5 antibodies induces subepidermal blisters in neonatal mice.** J Clin Invest 98:1509–1518
- Rousselle P, Lunstrum GP, Keene DR, Burgeson RE (1991) **Kalinin: an epithelium-specific basement membrane adhesion molecule that is a component of anchoring filaments.** J Cell Biol 114:567–576
- Liu Z, Diaz LA, Troy LJ, Taylor AF, Emery DJ, Fairley JA, Giudice GJ (1993) **A passive transfer model of the organ specific autoimmune disease bullous pemphigoid, using antibodies generated against the hemidesmosomal antigen BP180.** J Clin Invest 92:2480–2488
- Bernauer W, Itin PH, Kirtschig G (1997) **Cicatricial pemphigoid,** vol 28. In: Bernauer W, Dart JKG, Elder MJ (eds) Cicatrizing conjunctivitis. Karger, Basel pp 46–63
- Guidice GJ, Emery DJ, Diaz LA (1992) **Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP180.** J Invest Dermatol 99:243–250
- Bernard Ph, Prost C, Durepaire N, Basset-Seguain N, Didierjean L, Saurat JH (1992) **The major cicatricial pemphigoid antigen is a 180-kD protein that shows immunologic cross-reactivity with the bullous pemphigoid antigen.** J Invest Dermatol 99:174–179
- Bédane C, McMillan JR, Balding SD, Bernard Ph, Prost C, Bonnetblanc JM, Diaz LA, Eady RAJ, Giudice GJ (1997) **Bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid autoantibodies react with ultrastructurally separable epitopes on the BP180 ectodomain: evidence that BP180 spans the lamina lucida.** J Invest Dermatol 108:901–907
- Masunaga T, Shimizu H, Yee C, Borradori L, Lazarova Z, Nishikawa T, Yancey K (1997) **The extracellular domain of BPAG2 localizes to anchoring filaments and its carboxyl terminus extends to the lamina densa of normal human epidermal basement membrane.** J Invest Dermatol 109:200–206
- Balding SD, Prost C, Diaz LA, Bernard P, Bédane C, Aberdam D, Giudice GJ (1996) **Cicatricial pemphigoid autoantibodies react with multiple sites on the BP180 extracellular domain.** J Invest Dermatol 106:141–146
- Kirtschig G, Marinkovich MP, Burgeson RE, Yancey KB (1995) **Anti-basement membrane autoantibodies in patients with anti-epiligrin cicatricial pemphigoid bind the α subunit of laminin 5.** J Invest Dermatol 105:543–548
- Ghohestani RF, Rousselle P, Nicolas JF, Claudy A (1996) **α and β subunits of laminin-5 are target antigens in a subset of patients with cicatricial pemphigoid.** J Invest Dermatol 106:846 (abstr)
- Hashimoto T, Murakami H, Senboshi Y, Kanzaki H, Arata J, Yancey KB, Nishikawa T (1996) **Anti-epiligrin cicatricial pemphigoid: the first case from Japan.** J Am Acad Dermatol 34:940–942
- Lish K, Washenik K, Yancey KB, Yee C, Rico MJ (1997) **Anti-epiligrin cicatricial pemphigoid in a patient with HIV.** J Am Acad Dermatol 36:486–488
- Kirtschig G, Caux F, McMillan JR, Bédane C, Aberdam D, Ortonne JP, Eady RAJ, Prost C (1998) **Acquired junctional epidermolysis bullosa associated with IgG autoantibodies to the β subunit of laminin 5.** Br J Dermatol 138:125–130
- Burgeson RE, Chiquet M, Deutzmann R, Ekblom P, Engel J, Kleinman H, Martin GR, Meneguzzi G, Paulsson M, Sanes J, Timpl R, Tryggvason K, Yamada Y, Yurchenco PD (1994) **A new nomenclature for the laminins.** Matrix Biol 14:209–211
- Shimizu H, Masunaga T, Ishiko A, Matsumura K, Hashimoto T, Nishikawa T, Domloge-Hultsch N, Lazarova Z, Yancey KB (1995) **Autoantibodies from patients with cicatricial pemphigoid target different sites in epidermal basement membrane.** J Invest Dermatol 104:370–373
- Borradori L, Sonnenberg A (1996) **Hemidesmosomes: roles in adhesion, signaling and human disease.** Curr Opin Cell Biol 8:647–656
- Rousselle P, Keene DR, Ruggiere F, Champlaud MF, van der Rest M, Burgeson RE (1997) **Laminin 5 binds the NC-1 domain of type VII collagen.** J Cell Biol 138:719–728
- Marinkovich MP, Lunstrum GP, Burgeson RE (1992) **The anchoring filament protein kalinin is synthesized and secreted as a high molecular weight precursor.** J Biol Chem 267:17900–17906

31. Fine JD, Horiguchi Y, Jester J, Couchman JR (1989) **Detection and partial characterization of a midlamina lucida-hemidesmosome-associated antigen (19-DEJ-1) present within human skin.** *J Invest Dermatol* 92:825–830
32. Horiguchi Y, Ueda M, Shimizu H, Tanaka T, Matsuyoshi N, Utani A, Ikai K, Nishikawa T, Imamura S (1996) **An acquired bullous dermatosis due to an autoimmune reaction against uncein.** *Br J Dermatol* 134:934–938
33. Zeng L, Daniels A, Riddelle K, Fine JD (1994) **Uncein, an anchoring filament component, is biochemically similar to kalinin but differs markedly in its in vitro expression by normal human keratinocyte monolayers.** *J Invest Dermatol* 102:535b (abstr)
34. Chan LS, Majmudar AA, Tran HH, Meier F, Schaumburg-Lever G, Chen M, Anhalt G, Woodley DT, Marinkovich MP (1997) **Laminin-6 and Laminin-5 are recognized by autoantibodies in a subset of cicatricial pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 108:848–853
35. Lazarova Z, Hsu R, Yee C, Yancey K (1997) **IgG autoantibodies in patients with anti-epiligrin cicatricial pemphigoid (CP) recognize the α subunit of laminin 5 and 6.** *J Invest Dermatol* 108:592 (abstr)
36. Marinkovich MP, Lunstrum GP, Keene DR, Burgeson RE (1992) **The dermal-epidermal junction of human skin contains a novel laminin variant.** *J Cell Biol* 119:695–703
37. Sarret Y, Reano A, Nicholas JF, Su H, Thivolet J (1989) **Bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid: immunoblotting detection of involved autoantigens.** *Autoimmunity* 2:145–153
38. Petit A, Perrin P, Bernard P, Blanchet-Bardon C, Janier M, Civatte J (1990) **A case of cicatricial pemphigoid with circulating IgA and IgG antibodies directed against 280 kD, 165 kD, and 120–130 kD epidermal antigens.** *Acta Dermatol Venereol (Stockh)* 70:236–238
39. Pas HH, Kloosterhuis GJ, Heeres K, van der Meer JB, Jonkman MF (1997) **Bullous pemphigoid and linear IgA dermatosis sera recognize a similar 120-kDa keratinocyte collagenous glycoprotein with antigenic cross-reactivity to BP180.** *J Invest Dermatol* 108:423–429
40. Marinkovich MP, Taylor TB, Keene DR, Burgeson RE, Zone JJ (1996) **LAD-1, the linear IgA bullous dermatosis autoantigen, is a novel 120-kDa anchoring filament protein synthesized by epidermal cells.** *J Invest Dermatol* 106:734–738
41. Ghohestani RF, Nicolas JF, Rousselle P, Claudy AL (1996) **Identification of a 168-kDa mucosal antigen in a subset of patients with cicatricial pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 107:136–139
42. Ghohestani RF, Nicolas JF, Rousselle P, Claudy AL (1997) **Identification of new target antigens in sub-epithelial bullous dermatoses.** *J Invest Dermatol* 109:419 (abstr)
43. Bhol K, Goss L, Tyagi SR, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR (1996) **Partial characterization of oral pemphigoid antigen.** *J Invest Dermatol* 106:848 (abstr)
44. Bhol K, Tyagi SR, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR (1997) **Characterization of oral pemphigoid antigen.** *J Invest Dermatol* 108:636 (abstr)
45. Mohimen A, Neumann R, Foster CS, Ahmed AR (1993) **Detection and partial characterization of ocular cicatricial pemphigoid antigens on COLO ans ScaBER tumor cell lines.** *Curr Eye Res* 12:741–753
46. Tyagi S, Bhol K, Natarajan K, Livir-Rallatos C, Foster CS, Ahmed AR (1996) **Ocular cicatricial pemphigoid antigen: partial sequence and biochemical characterization.** *Proc Natl Acad Sci USA* 93:14714–14719
47. Smith EP, Taylor TB, Meyer LJ, Zone JJ (1993) **Identification of a basement membrane zone antigen reactive with circulating IgA antibody in ocular cicatricial pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 101:619–623
48. Smith EP, Zone JJ, Egan CA, Taylor TB, Meyer LJ, Petersen MJ (1998) **The 45 kD ocular cicatricial pemphigoid antigen is a keratin.** *J Invest Dermatol* 110:509 (abstr)
49. Eady RAJ, Dunnill MGS (1994) **Epidermolysis bullosa: hereditary skin fragility diseases as paradigms in cell biology.** *Arch Dermatol Res* 287:2–9

Eingegangen am 30. Oktober 1997
 Angenommen am 28. Januar 1998