

E. Schmidt · E.-B. Bröcker · D. Zillikens
Universitäts-Hautklinik, Würzburg

Neue Aspekte zur Pathogenese des bullösen Pemphigoids

Zusammenfassung

Das bullöse Pemphigoid (BP) ist eine Blasen bildende Autoimmundermatose des älteren Menschen. Die Autoantikörper sind gegen 2 hemidesmosomale Strukturproteine der Haut, BP180 und BP230, gerichtet. Während BP230 intrazellulär liegt und einen Bestandteil des hemidesmosomalen Plaques darstellt, ist BP180 ein transmembranöses Glykoprotein mit einer ca. 1000 Aminosäuren umfassenden extrazellulären Domäne. Die 76 Aminosäure große NC16A-Domäne unmittelbar an der Zellmembran stellt eine immundominante Region innerhalb der BP180-Ektodomäne dar. Die Mehrzahl der BP-Patienten weist zirkulierende Autoantikörper gegen BP180 NC16A auf, deren Serumspiegel mit der Krankheitsaktivität korrelieren. Durch den passiven Transfer von Kaninchenantikörpern, die gegen murines BP180 erzeugt wurden, gelingt die Induktion einer BP-ähnlichen subepidermal Blasen bildenden Erkrankung in neonatalen Mäusen. Dies unterstreicht die biologische Bedeutung von Antikörpern gegen BP180. Die pathogenetisch relevante Region auf dem murinen BP180 entspricht der humanen BP180-NC16A-Domäne. Anders als beim Pemphigus führt beim BP die alleinige Bindung der Autoantikörper an das Autoantigen nicht zur Blasenbildung. Zusätzlich sind die Aktivierung von Komplement, die Infiltration von Entzündungszellen und die Freisetzung von Proteasen und verschiedenen Entzündungsmediatoren für die Blasenbildung erforderlich. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über den heutigen Kenntnisstand zur Pathogenese des BP, der sich innerhalb der letzten Jahre erheblich vermehrt hat.

Schlüsselwörter

Autoantigen · BP180 · ELISA · Mausmodell · Zytokine

Das bullöse Pemphigoid (BP) ist eine Blasen bildende Autoimmundermatose des älteren Menschen. Mit einer Inzidenz von etwa 6 Neuerkrankungen pro 1 Mio. Einwohner im Jahr ist sie die mit Abstand häufigste Blasen bildende Autoimmundermatose [7, 74]. Das Geschlechtsverhältnis ist nahezu ausgeglichen. Während die Inzidenz bei den unter 60-Jährigen bei 0,6 liegt, steigt sie bei den über 90-Jährigen auf fast 400 neue Fälle pro 1 Mio. Einwohner und Jahr an [31]. Nur selten sind Kinder betroffen. Eine genetische Prädisposition für die Erkrankung ist mit dem Haplotyp HLA-DQB1*0301 assoziiert [12, 17]. Selten scheint das BP auch durch Medikamente auslösbar. Wiederholt wurde in Fallberichten eine mögliche Induktion der Erkrankung durch Benzothiadiazide, Aldosteronantagonisten, Furosemid, ACE-Hemmer und Neuroleptika dokumentiert. In einer multizentrischen, kontrollierten, prospektiven Studie wurde kürzlich eine Assoziation zwischen der Einnahme von Neuroleptika und Aldosteronantagonisten und dem BP beobachtet [5].

Klinisch ist das BP durch pralle Blasen auf normaler oder erythematöser Haut gekennzeichnet (Abb. 1). Histolo-



Abb. 1 ▲ Bullöses Pemphigoid. Pralle Blasen, Erosionen und Krusten an Unterarm und Ellenbeuge

gisch zeigt sich eine subepidermale Blasenbildung (Abb. 2). Prädilektionsstellen der Blasen sind das untere Abdomen, die Innenseite der Oberschenkel und Unterarme und die Intertrigines [75]. An diesen Stellen wurden auch die stärksten Ablagerungen der Autoantikörper in der direkten Immunfluores-

Priv.-Doz. Dr. D. Zillikens
Universitäts-Hautklinik
(Direktorin: Prof. Dr. E.-B. Bröcker),
Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg,
E-Mail: zillikens-d.derma@mail.
uni-wuerzburg.de

New aspects in the pathogenesis of bullous pemphigoid

Abstract

Bullous pemphigoid (BP) is a subepidermal blistering autoimmune disease of the elderly. Autoantibodies are directed against two hemidesmosomal proteins, designated BP180 and BP230. While BP230 localizes intracellularly and associates with the hemidesmosomal plaque, BP180 is a transmembrane glycoprotein with an extracellular domain consisting of approximately 1000 amino acids. The non-collagenous (NC) 16A domain, that encompasses 76 amino acids and localizes directly adjacent to the transmembrane region, has been identified as an immunodominant region of the BP180 ectodomain. In the majority of BP sera, circulating antibodies to BP180 NC16A are detected; their serum levels correlate with disease activity. Neonatal mice that are injected with rabbit anti-murine BP180 antibodies develop a BP-like subepidermal blistering disease demonstrating the biological importance of antibodies to BP180. The pathogenically relevant site on murine BP180 corresponds to a stretch of the NC16A domain on human BP180. In contrast to pemphigus, in BP, autoantibodies alone are not sufficient to induce blisters. In addition, complement activation, the infiltration of inflammatory cells and the release of proteases and various inflammatory mediators, including cytokines, are essential for lesion formation. In this review, we give an up-date on the pathogenesis of BP.

Keywords

Autoantigen · BP180 · ELISA · Mouse model · Cytokine

Übersicht

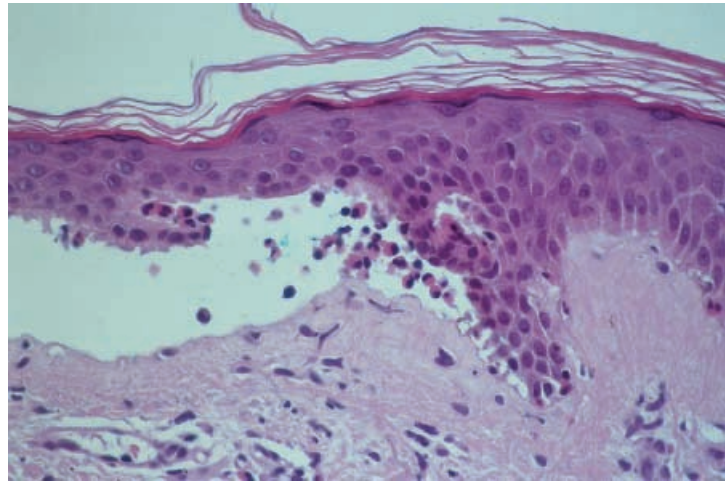


Abb. 2 ▲ Bullöses Pemphigoid. Subepidermale Blasenbildung, geringes Entzündungsinfiltrat im oberen Korium, zahlreiche eosinophile Granulozyten im Blasenlumen (Vergr. 400:1)

zenz (IF) nachgewiesen [67]. Bei 15–30% der Patienten ist nur eine Körperregion betroffen, und bei ca. 25% finden sich Läsionen in der Mundhöhle, selten an Genitalschleimhaut oder Konjunktivä [33, 75]. In einem prämonitorischen Stadium fehlt die Blasenbildung, und es finden sich Ekzeme, urtikarielle Plaques oder exkorierte Papeln [75]. Verschiedene klinische Varianten des BP werden als vesikuläres, dyshidrosiformes oder seborrhoisches Pemphigoid bezeichnet und lassen sich vom Pemphigoid vegetans, Pemphigoid nodularis und vom nichtbullösen BP abgrenzen [70]. Allen Formen des BP ist der unterschiedlich stark ausgeprägte Juckreiz, über den 98% unserer stationären BP-Patienten klagten, und die fehlende Narbenbildung gemeinsam [33].

Autoantigene des BP

Neben klinischem Bild und histologischer Untersuchung ist der Nachweis der Autoantikörper in der IF von entscheidender diagnostischer Bedeutung. Erstmals wiesen Jordan et al. 1967 in der Haut und im Serum von BP-Patienten diese Autoantikörper nach [29]. In perilesionärer Haut finden sich in über 90% lineare Ablagerungen von IgG und in praktisch allen Fällen von C3 an der dermoepidermalen Junctionszone [33, 34, 75]. Mittels indirekter IF lassen sich auf humaner Haut oder Affenösophagus Autoantikörper in ca. 70% der Fälle nachweisen [29]. Als sensitivstes Substrat für die indirekte IF zum Nachweis von BP-Autoantikörpern hat sich mit

1 M NaCl gespaltene humane Haut erwiesen. Mit diesem Verfahren sind bei etwa 90% der BP-Patienten zirkulierende Autoantikörper nachweisbar [32], die an der epidermalen Seite des künstlichen Spalts binden (Abb. 3), seltener sieht man eine kombinierte epidermale und dermale Bindung [75]. In der indirekten IF ist IgG₄ die dominierende Autoantikörperklasse, gefolgt von IgG₁ und IgG₃, selten wird die Bindung von IgA, IgM und IgE an der Basalmembran beobachtet [9].

Als Zielantigen des BP wurde 1981 mittels Immunpräzipitation und Westernblot ein 230 kD schweres Protein (BP230) identifiziert [68]. Wenige Jahre später wurde BP180 als weiteres Autoantigen des BP beschrieben [35]. Die Mehrzahl der BP-Seren reagiert sowohl mit BP180 als auch mit BP230 oder mit BP230 alleine, in einem Teil der Seren ist die Reaktivität auf BP180 beschränkt (Abb. 4; [33, 35]). Unterschiede hinsichtlich des Zielantigens scheinen keinen wesentlichen Einfluss auf die klinische Ausprägung des BPs zu haben, jedoch wurde Reaktivität gegen BP180 mit ausgedehnteren Läsionen und einer erhöhten Letalität bei älteren Patienten in Zusammenhang gebracht [8]. Die Klonierung der cDNA für BP230 und BP180 ermöglichte die weitere Charakterisierung der beiden Autoantigene [18, 21, 69].

BP230

BP230 liegt intrazellulär und ist Bestandteil des hemidesmosomalen Plaques. Es gehört zur Familie der Plakine und weist große Homologie mit Plektin

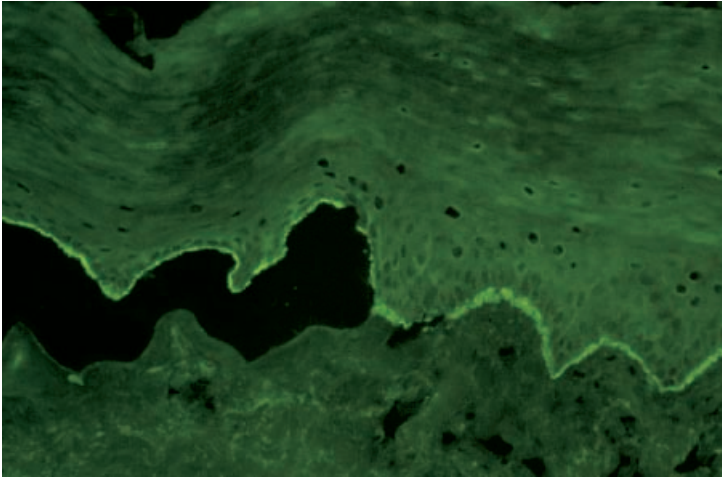


Abb. 3 ▲ Indirekte Immunfluoreszenz auf mit 1 M NaCl gespaltener humaner Haut. Typischerweise binden die IgG-Serumantikörper des BP auf der epidermalen Seite des künstlichen Spaltens (Vergr. 250:1)

und Proteinen des desmosomalen Plaques auf [10]. Das Carboxylende bindet an die Keratinfilamente des Zytoplasmas während der N-Terminus wahrscheinlich mit BP180 und der β_4 -Kette des $\alpha_6\beta_4$ -Integrins interagiert [10]. In der Immunpräzipitation und/oder im Immunoblot mit rekombinanten Fragmenten von BP230 reagieren über 90% der Seren mit BP230 [44, 46]. Hierbei werden verschiedene Epitope, die über das gesamte Molekül verteilt liegen, erkannt [44]. Interessanterweise wird die Immunantwort gegen BP230 neben IgG v. a. durch IgE vermittelt [16].

BP180

Im Gegensatz zu BP230 ist BP180, auch als Kollagen Typ XVII bezeichnet, ein transmembranöses Glykoprotein mit einer Typ-II-Orientierung, d. h., der N-Terminus liegt intra- und der C-Terminus extrazellulär. Die Ektodomäne umfasst ca. 1000 Aminosäuren und besteht aus 15 Kollagen- und 16 Nichtkollagen-(NC-)Domänen (Abb. 5; [21, 80]). Die Kollagenomänen sind typischerweise in jeder 3. Aminosäureposition mit Glyzin besetzt und haben einen hohen Prolinanteil [21, 80]. Biochemische Analysen zeigten, dass BP180 als Homotrimer vorliegt. Der intrazelluläre Abschnitt bildet einen globulären Kopf, der membranproximale Anteil der Ektodomäne (COL15) einen zentralen, gestreckten Teil von ca. 60–70 nm Länge und der C-terminale Abschnitt den flexiblen Schwanz des Moleküls [25]. In Einklang

mit diesen Arbeiten belegen immunoelektronenmikroskopische Untersuchungen, dass BP180 N-terminal mit dem hemidesmosomalen Plaque assoziiert ist. Mit dem zentralen Anteil überspannt das Protein die ca. 55–65 nm breite Lamina lucida und reicht mit dem C-Terminus in die Lamina densa [25, 42]. Die NC16A-Domäne, die sich extrazellulär unmittelbar an die Zytoplasmamembran anschließt, stellt einen immunodominanten Abschnitt von BP180 dar. Interessanterweise reagieren BP-Seren lediglich mit den N-terminalen 45 Aminosäuren dieser Domäne (Abb. 5, Abb. 6; [76]). Über diese Region scheint auch die Interaktion mit α_6 -Integrin vermittelt zu werden [25]. Eine Verbindung mit β_4 -Integrin sowie mit BP230 und Keratin 18 besteht über den intrazellulären Anteil von BP180 (Abb. 5; [1, 10]). Über die Interaktion von Laminin 5 mit der BP180-Ektodomäne wurde ebenfalls berichtet [54]. Etwa 20% der BP-Seren weisen Reaktivität mit intra- und extrazellulären Epitopen außerhalb von BP180 NC16A auf [49, 53, 76].

Wird BP180 NC16A als Zielantigen im ELISA verwendet, sind in der überwiegenden Mehrzahl der BP-Seren Antikörper gegen diese Domäne nachweisbar [33, 48, 77]. Ähnliche Ergebnisse wurden mit einem Fusionsprotein erreicht, das fast die gesamte Ektodomäne von BP180 umfasst [23]. Untersuchungen mit dem BP180-NC16A-ELISA und mittels Westernblot zeigten, dass die humorale Immunantwort gegen BP180 überwiegend durch IgG₄ und IgE ver-

mittelt wird, weniger durch IgG₁, IgG₂ oder IgG₃ (Abb. 7; [19]). In verschiedenen Studien wurde über den fehlenden Zusammenhang zwischen den Antikörpertitern der indirekten IF und der Krankheitsaktivität der Patienten berichtet [72]. Anhand von 15 BP-Patienten konnten wir kürzlich mithilfe des BP180NC16A-ELISAs nachweisen, dass die Krankheitsaktivität der Patienten mit den Serumspiegeln der Autoantikörper gegen BP180 NC16A korreliert, nicht jedoch mit dem Autoantikörpertiter der indirekten IF auf NaCl-separierter Spalthaut [62]. Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, dass beim BP die IF-Reaktivität in erster Linie durch Antikörper gegen BP230 und nur zu einem geringeren Teil durch Antikörper gegen BP180 vermittelt wird [51]. Bei den von uns untersuchten Patienten korrelierte auch die orale Steroiddosis, die nötig war, um weitere Blasenbildung zu unterdrücken, mit der BP180NC16A-Reaktivität

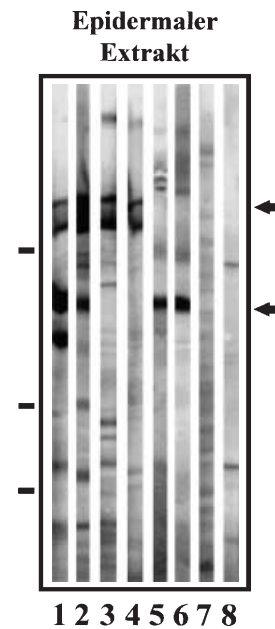


Abb. 4 ▲ Charakterisierung der Autoantikörper des bullösen Pemphigoids mittels Westernblot epidermaler Extrakte. Epidermaler Extrakt wurde durch 6% SDS-PAGE separiert, auf Nitrozellulose übertragen und mit 6 BP Seren (Spur 1–6) und 2 negativen Kontrollseren (Spur 7, 8) inkubiert. In Spur 1 und 2 reagieren die BP-Seren mit BP230 und BP180, in Spur 3 und 4 nur mit BP230 und in Spur 5 und 6 nur mit BP180. Die beiden negativen Kontrollseren zeigen keine spezifische Reaktivität. Auf der linken Seite sind die Positionen der Molekulargewichtsmarker von 200, 116 und 97 kDa angezeigt, auf der rechten Seite die Positionen von BP230 und BP180

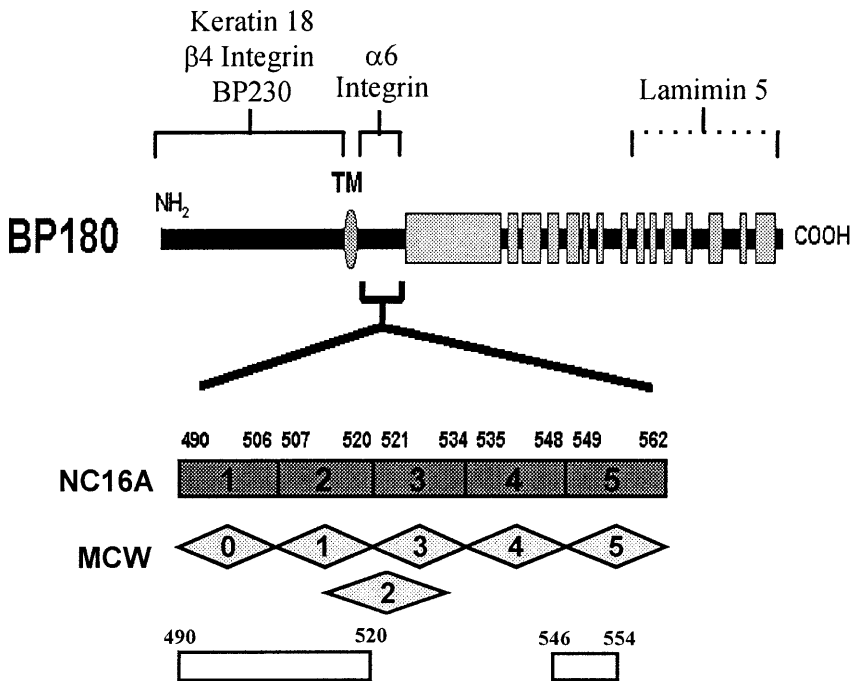


Abb. 5 ▲ Schematische Darstellung des humanen BP180-Proteins. Die transmembranöse Region ist mit *TM* gekennzeichnet, der N-terminale Anteil liegt intrazellulär (*links*), und die C-terminale Ektodomäne kommt mit ihren 15 unterbrochenen Kollagendomänen (*graue Kästchen*) rechts zur Darstellung. Die NC16A-Domäne ist in 5 Regionen zu je ca. 15 Aminosäuren unterteilt, die Position der jeweiligen Aminosäuren ist oberhalb der Kästchen angegeben. Die rautenförmigen Abschnitte repräsentieren die verschiedenen Epitope der NC16A-Domäne (MCW-0 bis MCW-5). Unterhalb der Grafik zeigt das helle Rechteck auf der rechten Seite die Position des Epitops auf dem murinen BP180, das im passiven Mausmodell für BP als pathogenetisch relevant identifiziert wurde [37]. Links unten ist der im Keratinozytenmodell als funktionell relevant charakterisierte Abschnitt auf humanem BP180 gezeigt [64]. Oberhalb der Grafik sind Bindungsstellen von BP180 mit anderen Proteinen dargestellt

tät im Serum [62]. Der BP180-NC16A-ELISA ist somit ein geeignetes und einfach zu handhabendes Instrument zur Diagnostik und Therapiekontrolle des BP.

Kürzlich wurde im Überstand kultivierter humaner Keratinozyten ein 120 kDa schweres Protein nachgewiesen, das im Westernblot mit BP-Seren reagiert (Abb. 8). Dieses 120-kDa-Protein entspricht weitgehend der extrazellulären Domäne von BP180 [25, 52, 57, 82]. Möglicherweise entsteht das 120-kDa-Protein durch proteolytische Spaltung der BP180-Ektodomäne [25, 57]. Über die biologische Bedeutung dieses Phänomens kann derzeit nur spekuliert werden. Die proteolytische Abspaltung der BP180-Ektodomäne könnte jedoch für die Zellmigration bei Wachstum und Wundheilung von Bedeutung sein.

Weitere Arbeiten zeigten, dass neben dem BP vier weitere Erkrankungen mit Autoantikörpern gegen BP180 einhergehen [78]. Hierzu zählen das Pemphigoid gestationis [14, 45], der Lichen planus

pemphigoides [11, 79] sowie Untergruppen von Patienten mit vernarbendem Pemphigoid [6] und linearer IgA-Dermatose [63, 81, 82].

Pathophysiologie

Entzündungszellen, Proteasen und Zytokine als essenzielle Faktoren für die Blasenbildung des BP

Die Autoantikörper des BP binden entlang der dermoepidermalen Junctionszone, also an der Stelle, an der es zur Blasenbildung kommt. Die pathogenetische Relevanz dieser Autoantikörper liegt daher nahe und wurde anhand verschiedener experimenteller Modelle untersucht. Mithilfe von Organkulturen und Kryostatschnitten normaler Haut wurde gezeigt, dass – anders als beim Pemphigus – BP-Autoantikörper nur dann eine subepidermale Spaltbildung auslösen, wenn gleichzeitig Komplement aktiviert und Entzündungszellen in die Haut rekrui-

tiert werden [20, 47]. Komplementaktivierung mit linearer Ablagerung von C3 und des Membranangriffskomplexes an der Basalmembran und ein zellreiches dermales Infiltrat von Leukozyten sind typische Befunde in BP-Läsionen [30]. Die früheste Veränderung ist eine Degranulation von Mastzellen nahe der Basalmembran, später wandern mononukleäre Zellen ein, gefolgt von Eosinophilen und Neutrophilen [30]. Die Mehrheit des dermalen Infiltrats besteht aus aktivierten T-Zellen mit einem Verhältnis CD4/CD8 von 2:1, gefolgt von Monozyten/Makrophagen und Granulozyten [2]. Die von diesen Zellen freigesetzten Enzyme werden letztlich für die Blasenbildung verantwortlich gemacht [30, 47]. Diese komplexe Entzündungsreaktion ist ohne Steuerungsmechanismen nicht denkbar.

Entzündungsmediatoren und Zytokine sind zelluläre Botenstoffe, die Immunreaktionen vermitteln und modulieren können. In Blasenflüssigkeiten von BP-Patienten wurden deutlich erhöhte Spiegel verschiedener Zytokine wie TNF α [3, 73], IFN γ [3], IL-1 β [3, 61], IL-2 [3], IL-4 [3, 60], IL-5 [3], IL-6 [3, 60], IL-8 [3, 59], IL-10 [60] und sCD23 [58] sowie erhöhte Konzentrationen an löslichen Rezeptoren für TNF [71] und IL-2 [72] nachgewiesen. Keine erhöhten Werte wurden für IL-1 α , IL-3, GM-CSF [60, 61], IL-11 und IL-12 gefunden [3]. Interessanterweise korrelieren die Spiegel von TNF α , IL-1 β , IL-8 und besonders von IL-5 im Blaseninhalt mit der Krankheitsaktivität der Patienten [3]. Im Serum der Patienten wurden im Vergleich zu Normalseren ebenfalls erhöhte Zytokinmengen gemessen. Auch hier korrelierten die Serumwerte von IL-6 und IL-8 mit der Schwere der Erkrankung [27]. Diese Daten lassen vermuten, dass Zytokine an der Pathogenese des BP beteiligt sind.

Th₂ Zellen

Kürzlich wurde über die Bedeutung peripherer T-Zellen für die Pathogenese des BP berichtet. Mit einem rekombinanten Protein, das den Hauptteil der BP180-Ektodomäne umfasst, ließ sich eine Stimulation dieser Zellen der Patienten erreichen. Die Proliferationsantwort war auf MHC-DQ β 1*0301-positive Zellen beschränkt und wurde in erster

BP180 NC16A Fragmente

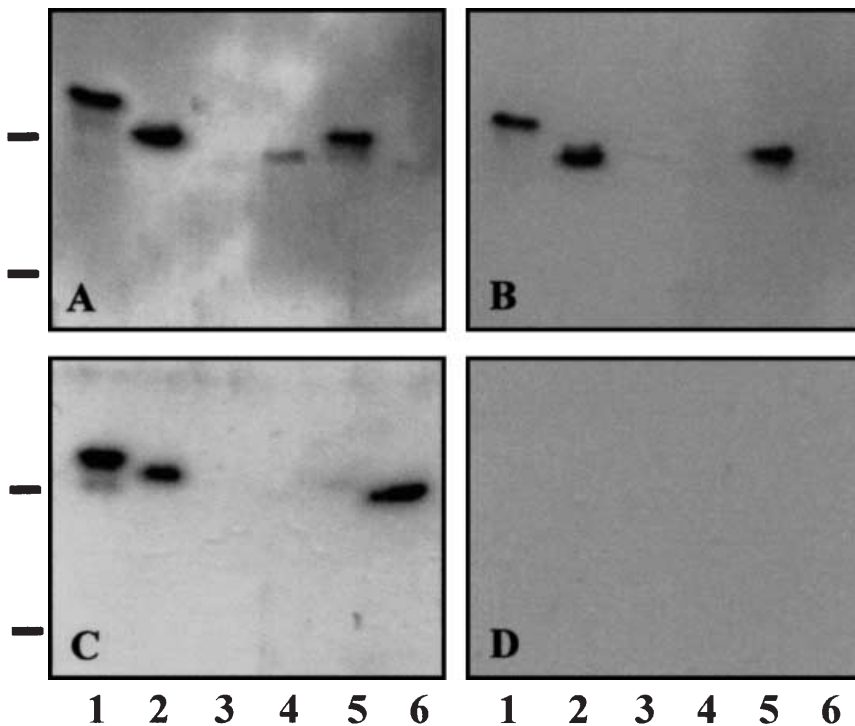


Abb. 6 ▲ Bindung von Autoantikörpern des bullösen Pemphigoids an verschiedene rekombinante Fragmente von BP180 NC16A im Westernblot. Verschiedene rekombinante Abschnitte von BP180 NC16A wurden in *E. coli* exprimiert, affinitätsaufgereinigt, mittels 15% SDS-PAGE fraktioniert, auf Nitrozellulose transferiert und mit BP-Seren (A, B, C) und einem negativen Kontrollserum (D) inkubiert. Alle Patientenserum reagieren mit NC16A1–5 (Spur 1) und NC16A1–3 (Spur 2). NC16A3 (MCW-3, Spur 3), NC16A2,5 (MCW-2, Spur 4), NC16A2 (MCW-1, Spur 5) und NC16A1 (MCW-0, Spur 6) werden mit unterschiedlicher Intensität erkannt. Das Serum einer gesunden Kontrolle (D) reagiert mit keinem der Fragmente. Auf der linken Seite sind die Positionen der Molekulargewichtsmarker von 31 und 21 kDa dargestellt

Linie durch CD4⁺-Zellen der Th₂-Subklasse mediiert [12]. Neben dieser Beobachtung sind auch die erhöhten Werte von Th₂-Zytokinen in Blasenflüssigkeit und Serum der BP-Patienten sowie der Nachweis von IL-4- und IL-13-mRNA im dermalen Entzündungsinfiltrat von BP-Läsionen [55] und die starke Präsenz von Eosinophilen in BP-Läsionen und im Blut der Patienten [13] Hinweise für die Aktivierung von Th₂-Zellen beim BP. Die Infiltration von Eosinophilen wird in erster Linie über die Th₂-Zytokine IL-4 und IL-5 reguliert. Als besonderes Phänomen beim BP gilt das Auftreten erhöhter IgE-Werte in Serum und Blasenflüssigkeit der Patienten [50, 58]. Über lineare IgE-Ablagerungen entlang der Basalmembran [50] sowie IgE-Reaktivität gegen BP180 und BP230 wurde ebenfalls berichtet [16, 19]. Die Produktion von IgE wie auch von IgG₄ wird durch die Aktivierung der Th₂-Zytokine IL-4 und

IL-13 vermittelt [15]. Die genannten Befunde sprechen dafür, dass beim BP Th₂-vermittelte Reaktionen von Bedeutung sind.

Darstellung der pathogenetischen Relevanz von Antikörpern gegen BP180 anhand des passiven Mausmodells

Weitere wichtige Informationen zur Pathogenese des BP ergaben sich durch den passiven Transfer der Autoantikörper in neonatale Mäuse [36]. Vor Entwicklung dieses Modells war die Injektion von BP-IgG in die Hornhaut von Kaninchen die einzige Möglichkeit, ein BP in vivo auszulösen [4]. Da die Kornea bei BP-Patienten nur sehr selten befallen ist und die intradermale Injektion bei diesen Tieren zu keiner Reaktion führte, war die Aussagekraft dieses Modells jedoch beschränkt. Auch die Injektion

von aus BP-Serum aufgereinigtem IgG in Rhesusaffen, Meerschweinchen und Mäuse führte zu keiner Blasenbildung [36, 56]. Spätere Untersuchungen zeigten eine mögliche Erklärung für diese Befunde. So weist die der NC16A-Domäne entsprechende Region auf BP180 von Mäusen eine hohe Sequenzdivergenz zum humanen BP180 NC16A auf. Humane Antikörper binden daher nicht an diesen Abschnitt des murinen BP180 [36]. Basierend auf dieser Beobachtung wurden Kaninchen mit einem rekombinanten Fragment des murinen BP180 immunisiert, das den extrazellulären Proteinabschnitt unmittelbar an der Zellmembran mit einschloss. Die intradermale oder intraperitoneale Injektion dieses Kaninchen-IgG in neonatale Mäuse führte bei den Tieren zu einer dem BP ähnlichen Erkrankung. Zwar entstanden spontan keine Blasen, aber die Epidermis zeigte eine verminderte Adhäsion auf der Dermis und ließ sich durch tangenzialen Druck leicht abscheren (Abb. 9a; [38]). In der direk-

BP180 NC16A1-5

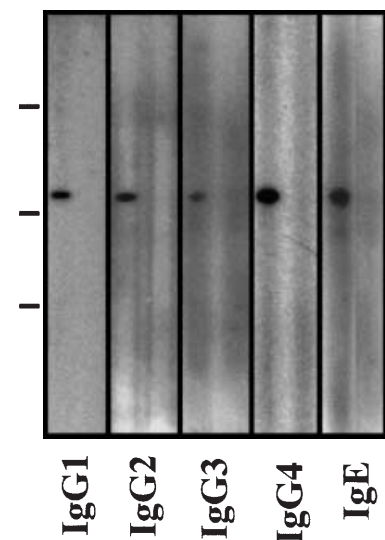


Abb. 7 ▲ Beim bullösen Pemphigoid wird die Reaktivität gegen BP180 NC16A v. a. durch Autoantikörper der IgG₄- und IgE-Klasse vermittelt. IgG₁-, IgG₂-, IgG₃-, IgG₄- und IgE-Reaktivität eines BP-Serums (jeweils linke Spur) mit rekombinanten BP180 NC16A im Westernblot. Eine vergleichbare Sensitivität der Sekundärantikörper in ihrer jeweiligen Verdünnung wurde zuvor im Immunoblot gegen Myelomprotein eingestellt. Das Serum einer gesunden Kontrollperson (jeweils rechte Spur) reagiert nicht mit BP180 NC16A. Auf der linken Seite sind die Positionen der Molekulargewichtsmarker von 45, 31 und 21 kDa dargestellt

120 kDa-Antigen

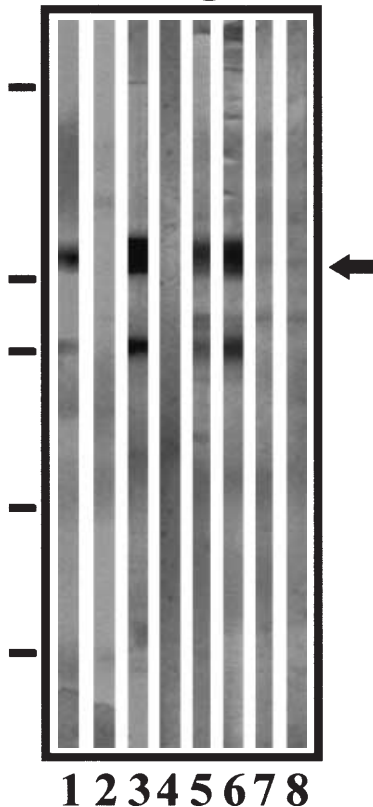


Abb. 8 ▲ Seren von Patienten mit bullösem Pemphigoid reagieren mit dem 120-kDa-Fragment aus dem Überstand kultivierter Keratinozyten. Ein monoklonaler Antikörper (mAB123, Spur 1), ein Kaninchenantikörper gegen BP180 (R594, Spur 3) und 2 BP Seren (Spur 5, 6) reagieren im Immunoblot mit dem 120-kDa-Fragment aus dem konzentrierten Kulturüberstand primärer humaner Keratinozyten. Der monoklonalmurine anti-CD45 Antikörper (Spur 2), präimmunes Kaninchenserum (Spur 4) und Serum von 2 gesunden Normalpersonen (Spur 7, 8) erkennen dieses Protein nicht. Die Migration der Molekulargewichtsmarker von 200, 116, 97, 66 und 45 kDa ist auf der linken Seite, die Position des 120-kDa-Proteins auf der rechten Seite dargestellt

ten IF banden Kaninchenantikörper und murine Komplementfaktoren entlang der dermoepidermalen Junctionszone der Maushaut, und histologisch war eine subepidermale Blasenbildung nachweisbar (Abb. 9b,c). Diese Ergebnisse belegten die pathogenetische Bedeutung des BP180-Autoantigens. Weitere Untersuchungen in diesem Modell zeigten, dass – anders als im passiven Transfermodell für den Pemphigus – Komplementaktivierung, die Infiltrati-

on von Neutrophilen und die Freisetzung von Proteasen am Ort der Spaltbildung eine zwingende Voraussetzung für die Auslösung des BP darstellen [38, 39, 41]. Zudem sind IL-1, IL-6 und IL-8 für die Blasenbildung essenziell, während intradermale Injektionen von IL-10 die Blasenbildung verhindern können [38, 40]. Diese Ergebnisse weisen auf die Bedeutung zellulärer Mechanismen für die Blasenbildung des BP hin.

Generalisierte atrophierende benigne Epidermolysis bullosa

Die Bedeutung von BP180 für die Stabilität der Basalmembranzzone wird dadurch unterstrichen, dass Mutationen des COL17-Gens, das für BP180 kodiert, ebenfalls zur subepidermalen Blasenbildung führen. Diese Mutationen finden sich bei der generalisierten atrophierenden benignen Epidermolysis bullosa (GABEB), einer nichtletalen Form der junctionalen Epidermolysis bullosa [28]. Verschiedene Mutationen von COL17 wurden beschrieben, die sowohl die NC16A-Region als auch andere Abschnitte auf der BP180-Ektodomäne betreffen [43, 65]. GABEB-Patienten leiden neben junctionaler Blasenbildung unter atrophischen Hautveränderungen und Alopezie sowie an Nagel- und Zahnanomalien, eine interne Beteiligung fehlt [28]. Kürzlich gelang es durch den Transfer des BP180-Gens in BP180-defiziente GABEB-Keratinozyten, die BP180-Expression und die Ausbildung einer regelrechten dermoepidermalen Junctionszone nach Transplantation der getherapierten Zellen auf SCID-Mäuse wiederherzustellen [66].

Darstellung der Bedeutung von BP230 für die Integrität der Basalmembran anhand von Tiermodellen

Weiteren Aufschluss über die Wirkung von Autoantikörpern beim BP erbrachte die Immunisierung von Kaninchen mit einem rekombinanten Abschnitt des humanen BP230. Die Kaninchen entwickelten zirkulierende Autoantikörper, die sich entlang der Basalmembran ablagerten. Jedoch kam es erst nach Bestrahlung mit UV-B zur epidermalen Nekrose der Kaninchenhaut [24]. Es ist daher anzunehmen, dass Autoantikörper gegen das intrazellulär gelegene BP230 erst dann relevant werden, wenn eine Vor-

schädigung des Keratinozyten z. B. durch Antikörper gegen BP180 stattgefunden hat. Diese Hypothese wird durch BP230-„Knockout-Mäuse“ gestützt. Diese Mäuse haben die Fähigkeit zur BP230-Expression verloren und zeigen lichtmikroskopisch eine Spaltbildung entlang der Basalmembran mit teilweiser Zerstörung der basalen Keratinozyten. Elektronenoptische Untersuchungen ließen erkennen, dass die Spaltbildung – anders als beim BP – nicht in der Lamina lucida, sondern in der subnukleären Region der basalen Keratinozyten verlief [22].

Erste Hinweise auf die funktionelle Bedeutung von humanen Antikörpern gegen BP180 durch in-vitro-Untersuchungen

Während die Pathogenese des experimentellen BP im passiven Mausmodell gut untersucht ist, gibt es wenige Daten über die pathogenetische Bedeutung der Autoantikörper bei der humanen Erkrankung. Wir untersuchten vor kurzem den Einfluss von IgG, das aus dem Serum von BP-Patienten aufgereinigt wurde, auf kultivierte humane Keratinozyten. Nach Stimulation mit BP-IgG synthetisierten und sezernierten Keratinozyten zeit- und dosisabhängig erhöhte Mengen von IL-6 und IL-8. In verschiedenen Versuchsansätzen konnten wir zeigen, dass dieser Effekt durch Antikörper gegen die N-terminalen 30 Aminosäuren der BP180 NC16A-Ektodomäne (MCW-0 und MCW-1; Abb. 5) vermittelt wird [64]. Dieser Abschnitt liegt etwas weiter N-terminal als die Aminosäuresequenz, über die die Antikörperwirkung im experimentellen Mausmodell mediiert [37]. Die Untersuchung der Antikörper gegen murines BP180 im Mausmodell und gegen humanes BP180 in der Kultur von humanen Keratinozyten könnte zu weiteren Aufschlüssen hinsichtlich der Pathogenese des BP führen. Diese Systeme eignen sich auch zur Untersuchung innovativer und differenzierter Therapieansätze für die Erkrankung.

Ausblick

Zukünftige Arbeiten dürften unser Wissen v. a. zur Pathophysiologie der Blasenbildung und der Interaktion der BP-Autoantigene mit anderen Strukturproteinen der dermoepidermalen Junktio-

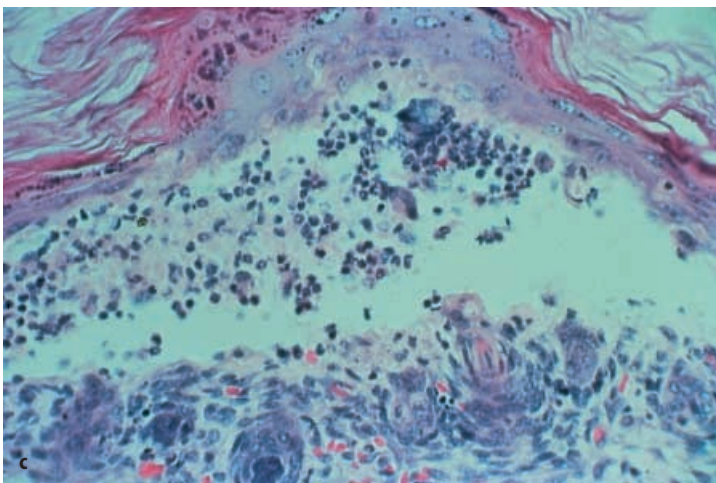
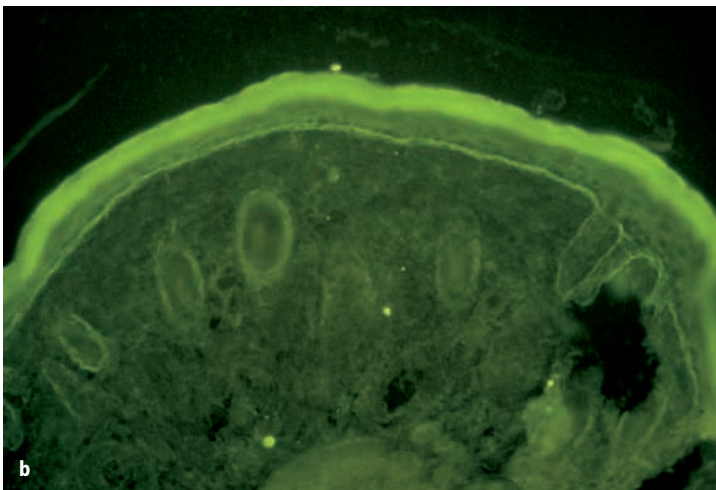


Abb. 9a–c ▲ Durch passiven Transfer eines Kaninchenantikörpers, der gegen murines BP180 erzeugt wurde, wird in neonatalen BALB/c-Mäusen eine BP-ähnliche subepidermale Blasenbildung ausgelöst. a Intradermale Injektion des Kaninchen-IgG führt nach 48 h zur Abscherbarkeit der Epidermis nach tangenzialem Druck (*untere Maus*). Normales Kaninchen-IgG (*obere Maus*) führt zu keiner Verminderung der Adhäsion von Epidermis und Dermis. b Lineare Ablagerungen des Kaninchen-IgG entlang der dermoepidermalen Junctionszone in der direkten Immunfluoreszenz perilesionaler Maushaut. c Histologie läsionaler Maushaut: Subepidermale Spaltbildung mit dermaler Infiltration neutrophiler Granulozyten (Vergr. 400:1)

onszone vermehren. Daneben gibt es zunehmende Bemühungen, die inzwischen deutlich gewachsenen immunpathologischen und molekularbiologischen Erkenntnisse zur Pathogenese des BP in eine spezifischere Therapie dieser Erkrankung umzusetzen. Diese Strategien dürften u. a. Vakzinierungen und die Induktion immunologischer Toleranz unter Verwendung rekombinanter Formen der Autoantigene einschließen.

Wir danken Prof. George J. Giudice, Department of Dermatology and Biochemistry, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA, für die Überlassung der Abbildungen zum neonatalen Mausmodell für das bullöse Pemphigoid. Iakov Chimanovitch, Rebekka Döpp und Christian Scheckenbach, Universitäts-Hautklinik Würzburg, danken wir für die Hilfe bei der Durchführung der Epitop-Mapping-Untersuchungen und Dr. Christian Rose für die Fotografien der histologischen Präparate.

Diese Arbeit wurde unterstützt durch das Interdisziplinäre Zentrum für klinische Forschung an der Universität Würzburg (IZKF-01KS9603, E.S.) und die Wilhelm-Sander-Stiftung, München (98.073.1, D.Z.).

Literatur

1. Aho S, Uitto J (1999) **180-kD bullous pemphigoid antigen/type XVII collagen: tissue-specific expression and molecular interaction with keratin 18.** J Cell Biochem 72:356–367
2. Ambach A, Zillikens D, Klingert B, Hartmann AA, Burg G (1992) **Immunphänotypisierung des mononukleären Infiltrats beim bullösen Pemphigoid** Hautarzt 43:81–85
3. Ameglio F, D'Auria L, Boifati C, Ferraro C, Mastroianni A, Giacalone B (1998) **Cytokine pattern in blister fluid and serum of patients with bullous pemphigoid: relationships with disease intensity.** Br J Dermatol 138:611–614
4. Anhalt GJ, Bahn CF, Labib RS, Voorheers JJ, Sugar A, Diaz LA (1981) **Pathogenic effects of bullous pemphigoid autoantibodies on rabbit corneal epithelium.** J Clin Invest 68:1097–1101
5. Bastuji-Garin S, Joly P, Picard-Dahan C et al. (1996) **Drugs associated with bullous pemphigoid.** Arch Dermatol 132:272–276
6. Bernard P, Prost C, Durepaire N, Basset-Seguini N, Didierjean L, Saurat JH (1992) **The major cicatricial pemphigoid antigen is a 180-kD protein that shows immunologic cross-reactivities with the bullous pemphigoid antigen.** J Invest Dermatol 99:174–179
7. Bernard P, Vaillant L, Labeille B et al. (1995) **Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin disease in three French regions.** Arch Dermatol 31:48–52

Übersicht

- Bernard P, Bedane C, Bonnetblanc JM (1997) **Anti-BP180 autoantibodies as a marker of poor prognosis in BP: a cohort analysis of 94 elderly patients.** *Br J Dermatol* 136:694–697
- Bird P, Friedman PS, Ling N, Bird AG, Thompson RA (1986) **Subclass distribution of IgG autoantibodies in bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 86:21–25
- Borradori L, Sonnenberg A (1999) **Structure and function of hemidesmosomes: more than simple adhesion complexes.** *J Invest Dermatol* 112:411–418
- Boulouc A, Vignon-Pennamen MD, Caux F, Teillac D et al. (1998) **Lichen planus pemphigoides is a heterogeneous disease: a report of five cases studied by immunoelectron microscopy.** *Br J Dermatol* 138:972–980
- Büdinger L, Borradori L, Yee C et al. (1998) **Identification and characterization of autoreactive T cell responses to bullous pemphigoid antigen 2 in patients and healthy controls.** *J Clin Invest* 102:2082–2089
- Bushkell LL, Jordon RE (1983) **Bullous pemphigoid: a cause of peripheral blood eosinophilia.** *J Am Acad Dermatol* 8:648–651
- Chimanovitch I, Schmidt E, Messer G et al. (1999) **IgG₁ and IgG₃ are the major immunoglobulin subclasses targeting epitopes within BP180 NC16A in pemphigoid gestationis.** *J Invest Dermatol* 113:140–142
- Chomarat P, Banchereau J (1998) **Interleukin-4 and interleukin-13: their similarities and discrepancies.** *Int Rev Immunol* 17:1–52
- Delaporte E, Dubost-Brama A, Ghohestani R et al. (1996) **IgE autoantibodies directed against the major bullous pemphigoid antigen in patients with a severe form of pemphigoid.** *J Immunol* 157:3642–3647
- Delgado JC, Turbay D, Yunis EJ et al. (1986) **A common major histocompatibility complex class II allele HLA-DQB1*0301 is present in clinical variants of pemphigoid.** *Proc Natl Acad Sci USA* 93:8569–8571
- Diaz LA, Ratrie H, Saunders WS, Futamura S, Squiquera HL, Anhalt GJ, Giudice GJ (1990) **Isolation of human epidermal cDNA corresponding to the 180-kDa autoantigen recognized by bullous pemphigoid and herpes gestationis sera.** *J Clin Invest* 86:1088–1094
- Döpp R, Schmidt E, Chimanovitch I, Leverkus M, Bröcker E-B, Zillikens D (2000) **IgG₄ and IgE are the major immunoglobulins targeting the NC16A domain of BP180 in bullous pemphigoid: Serum levels reflect disease activity.** *J Am Acad Dermatol* 42:577–583
- Gammon WR, Merritt CC, Lewis DM, Sams Jr WM, Carlo JR, Wheeler Jr CE (1982) **An in vitro model of immune complex-mediated basement membrane zone separation caused by pemphigoid antibodies, leukocytes, and complement.** *J Invest Dermatol* 78:285–290
- Giudice GJ, Emery DJ, Diaz LA (1992) **Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP180.** *J Invest Dermatol* 99:243–250
- Guo L, Degenstein L, Dowling J, Yu QC, Wollmann R, Perman B, Fuchs E (1995) **Gene targeting of BPAG1: abnormalities in mechanical strength and cell migration in stratified epithelia and neurologic degeneration.** *Cell* 81:233–243
- Haase C, Büdinger L, Borradori L, Yee C, Merck HF, Yancey K, Hertl M (1998) **Detection of IgG autoantibodies in the sera of patients with bullous and gestational pemphigoid: ELISA studies utilizing baculovirus-encoded form of bullous pemphigoid antigen 2.** *J Invest Dermatol* 110:282–286
- Hall III RP, Murray JC, McCord MM, Rico MJ, Streilein RD (1993) **Rabbits immunized with a peptide encoded for by the 230-kD bullous pemphigoid antigen cDNA develop an enhanced inflammatory response to UVB irradiation: a potential animal model for bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 101:9–14
- Hirako Y, Usukura J, Uematsu J, Hashimoto T, Kitajima Y, Owaribe K (1998) **Cleavage of BP180, a 180-kDa bullous pemphigoid antigen, yields a 120-kDa collagenous extracellular polypeptide.** *J Biol Chem* 273:9711–9717
- Hopkinson SB, Baker SE, Jones JCR (1995) **Molecular genetic studies of a human epidermal autoantigen (the 180-kD bullous pemphigoid antigen/BP180): identification of functionally important sequences within the BP180 molecule and evidence for an interaction between BP180 and $\alpha 6$ integrin.** *J Cell Biol* 130:117–125
- Inaoki M, Takehara K (1998) **Increased serum levels of IL-5, IL-6, and IL-8 in bullous pemphigoid.** *J Dermatol Sci* 16:152–157
- Jonkmann MF, Jong MCM de, Heeres K et al. (1995) **180-kD bullous pemphigoid antigen (BP180) is deficient in generalized atrophic benign epidermolysis bullosa.** *J Clin Invest* 95:1345–1352
- Jordon RE, Beutner EH, Witebsky E, Blumenthal G, Hale WF, Lever WF (1967) **Basement membrane antibodies in bullous pemphigoid.** *JAMA* 200:751–756
- Jordon RE, Kawana S, Fritz KA (1985) **Immunopathologic mechanisms in pemphigoid and bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 85:72s–78s
- Jung M, Kippes W, Messer G, Rzany B, Zillikens D (1999) **Increased risk of bullous pemphigoid in male and very old patients. A population-based study on incidence.** *J Am Acad Dermatol* 41:266–268
- Kelly SE, Wojnarowska F (1988) **The use of chemically split tissue in the detection of circulating anti-basement membrane zone antibodies in bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid.** *Br J Dermatol* 118:31–40
- Kippes W, Schmidt E, Roth A, Rzany B, Bröcker EB, Zillikens D (1999) **Immunopathologische Veränderungen bei 115 Patienten mit bullösem Pemphigoid.** *Hautarzt* 50:866–872
- Korman NJ (1998) **Bullous pemphigoid. The latest in diagnosis, prognosis, and therapy.** *Arch Dermatol* 134:1137–1141
- Labib RS, Anhalt GJ, Patel HP, Mutasim DF, Diaz LA (1986) **Molecular heterogeneity of the bullous pemphigoid antigens as detected by immunoblotting.** *J Immunol* 136:1231–1235
- Liu Z, Diaz LA, Troy JL, Taylor AF, Emery DJ, Fairley JA, Giudice GJ (1993) **A passive transfer mouse model of the organ-specific autoimmune disease, bullous pemphigoid, using antibodies generated against the hemidesmosomal antigen, BP180.** *J Clin Invest* 92:2480–2488
- Liu Z, Diaz LA, Swartz SJ, Troy JL, Fairley JA, Giudice GJ (1995) **Molecular mapping of a pathogenically relevant BP180 epitope associated with experimentally induced murine bullous pemphigoid.** *J Immunol* 155:5449–5454
- Liu Z, Giudice GJ, Swartz SJ, Fairley JA, Till GO, Troy JL, Diaz LA (1995) **The role of complement in experimental bullous pemphigoid.** *J Clin Invest* 95:1539–1544
- Liu Z, Giudice GJ, Zhou X et al. (1997) **A major role for neutrophils in experimental bullous pemphigoid.** *J Clin Invest* 100:1256–1263
- Liu Z, Giudice GJ, Zhou X, Fairley JA, Diaz LA (1997) **Interleukin-1 and -6 are required for subepidermal blistering in experimental bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 108:538 (Abstract)
- Liu Z, Shipley JM, Vu TH, Zhou X, Diaz LA, Werb Z, Senior RM (1998) **Gelatinase B-deficient mice are resistant to experimental bullous pemphigoid.** *J Exp Med* 188:475–482
- Masunaga T, Shimizu H, Yee C, Borradori L, Lazarova Z, Nishikawa T, Yancey KB (1997) **The extracellular domain of the lamina densa of BPAG2 localizes to anchoring filaments and its carboxy terminus extends to the lamina densa of normal human epidermal basement membrane.** *J Invest Dermatol* 109:200–206
- McGrath JA, Gatalica B, Christiano AM et al. (1995) **Mutations in the 180-kD bullous pemphigoid antigen (BPAG2), a hemidesmosomal transmembrane collagen (COL17A1) in generalized atrophic benign epidermolysis bullosa.** *Nat Genet* 11:83–86
- Miller JE, Rico MJ, Hall III RP (1993) **IgG antibodies from patients with bullous pemphigoid bind to fusion proteins encoded by BPAG1 cDNA.** *J Invest Dermatol* 101:779–782

45. Morrison LH, Labib RS, Zone JJ, Anhalt GJ (1988) **Herpes gestationis antibodies recognize a 180-kD human epidermal antigen.** *J Clin Invest* 81:2023–2026
46. Mueller S, Klaus-Kovtun V, Stanley JR (1989) **A 230-kD basic protein is the major bullous pemphigoid antigen.** *J Invest Dermatol* 92:33–38
47. Naito K, Morioka S, Ogawa H (1982) **The pathogenic mechanisms of blister formation in bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 79:303–306
48. Nakatani C, Muramatsu T, Shirai T (1998) **Immunoreactivity of bullous pemphigoid (BP) autoantibodies against the NC16A and C-terminal domains of the 180 kDa BP antigen (BP180): immunoblot analysis and enzyme-linked immunosorbent assay using BP180 recombinant proteins.** *Br J Dermatol* 139:365–370
49. Nie Z, Hashimoto T (1999) **IgA antibodies of cicatricial pemphigoid sera specifically react with C-terminus of BP180.** *J Invest Dermatol* 112:254–255
50. Parodi A, Rebora A (1992) **Serum IgE antibodies bind to the epidermal side of the basement membrane zone splits in bullous pemphigoid.** *Br J Dermatol* 126:526–527
51. Pas HH, Jong MCJM de, Jonkman MF, Heeres K, Slijper-Pal IJ, van der Meer JB (1995) **Bullous pemphigoid: serum antibody titre and antigen specificity.** *Exp Dermatol* 4:372–376
52. Pas HH, Kloosterhuis GJ, Heeres K, Meer JB van der, 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
53. Perriard J, Jaunin F, Favre B, Budinger L, Hertl M, Saurat JH, Borradori L (1999) **IgG autoantibodies from bullous pemphigoid (BP) patients bind antigenic sites on both the extracellular and the intracellular domains of the BP antigen 180.** *J Invest Dermatol* 112:141–147
54. Reddy D, Muller P, Tran H et al. (1998) **The extracellular domain of BP180 binds laminin 5.** *J Invest Dermatol* 110:593 (Abstract)
55. Rico MJ, Benning C, Weingart ES, Streilein RD, Hall III R (1999) **Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris.** *Br J Dermatol* 140:1079–1086
56. Sams WM, Gleich GJ (1971) **Failure to transfer bullous pemphigoid with serum from patients.** *Proc Soc Exp Biol Med* 136:1027–1031
57. Schäcke H, Schumann H, Hammami-Hauasli N, Raghunat M, Bruckner-Tuderman L (1998) **Two forms of collagen XVII in keratinocytes. A full-length transmembrane protein and a soluble ectodomain.** *J Biol Chem* 273:25937–25943
58. Schmidt E, Bröcker EB, Zillikens (1995) **High levels of soluble CD23 in blister fluid of bullous pemphigoid.** *Arch Dermatol* 131:966–967
59. Schmidt E, Ambach A, Bastian B, Bröcker EB, Zillikens D (1996) **Elevated levels of interleukin-8 in blister fluid of bullous pemphigoid compared with suction blisters of healthy controls.** *J Am Acad Dermatol* 34:310–312
60. Schmidt E, Bastian B, Dummer R, Tony HP, Bröcker EB, Zillikens D (1996) **Detection of elevated levels of IL-4, IL-6, and IL-10 in blister fluid of bullous pemphigoid.** *Arch Dermatol Res* 288:353–357
61. Schmidt E, Mittnacht A, Schömig H, Dummer R, Bröcker EB, Zillikens D (1996) **Detection of IL-1 α , IL-1 β , and IL-1 receptor antagonist in blister fluid of bullous pemphigoid.** *J Dermatol Sci* 11:142–147
62. Schmidt E, Obe K, Bröcker EB, Zillikens D (2000) **Levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid.** *Arch Dermatol* 136:174–178
63. Schmidt E, Herzele K, Schumann H et al. (1999) **Linear IgA disease with circulating IgA antibodies against the NC16A domain of BP180.** *Br J Dermatol* 140:964–967
64. Schmidt E, Reimer S et al. (1999) **Antibodies to BP180 induce the release of IL-6 and IL-8 from cultured normal human keratinocytes.** *Arch Dermatol Res* 291:172 (Abstract)
65. Schumann H, Hammami-Hauasli N, Pulkkinen L et al. (1997) **Three novel homozygous point mutations and a new polymorphism in the COL17A1 gene: relation to biological and clinical phenotype of junctional epidermolysis bullosa.** *Am J Hum Genet* 60:1344–1353
66. Seitz CS, Giudice GJ, Balding SD, Marinkovich MP, Khavari PA (1999) **BP180 gene delivery in junctional epidermolysis bullosa.** *Gene Therapy* 6:42–47
67. Sison-Fonancier L, Bystryn JC (1986) **Regional variations in antigenic properties of skin. A possible cause for disease-specific distribution of skin lesions.** *J Exp Med* 164:2125–2130
68. Stanley JR, Hawley-Nelson P, Yuspa SH, Shevach EM, Katz SI (1981) **Characterization of bullous pemphigoid antigen: a unique basement membrane protein of stratified epithelia.** *Cell* 24:897–903
69. Stanley JR, Tanaka T, Mueller S, Klaus-Kovtun V, Roop D (1988) **Isolation of complementary DNA for bullous pemphigoid antigen by use of patients' autoantibodies.** *J Clin Invest* 82:1864–1870
70. Wever S, Rank C, Hornschuh B, Hashimoto T, Nishikawa T, Bröcker EB, Zillikens D (1995) **Bullöses Pemphigoid unter dem Bild einer Prurigo simplex subacuta.** *Hautarzt* 46:789–795
71. Zentner A, Rendl J, Grelle I, Dummer R, Bröcker EB, Zillikens D (1994) **Elevated levels of soluble tumor necrosis factor receptor I in blister fluid of bullous pemphigoid and suction blisters.** *Arch Dermatol Res* 286:355–357
72. Zillikens D, Ambach A, Schuessler M, Dummer R, Hartmann AA, Burg G (1992) **The interleukin-2 receptor in lesions and serum of bullous pemphigoid.** *Arch Dermatol Res* 284:141–145
73. Zillikens D, Schuessler M, Dummer R, Porzolt F, Hartmann AA, Burg G (1992) **Tumor necrosis factor in blister fluids of bullous pemphigoid.** *Eur J Dermatol* 2:429–431
74. Zillikens D, Wever S, Roth A, Weidenthaler-Barth B, Hashimoto T, Bröcker EB (1995) **Incidence of autoimmune subepidermal blistering diseases in a region of central Germany.** *Arch Dermatol* 131:957–958
75. Zillikens D, Giudice GJ, Diaz LA (1996) **Bullous pemphigoid. An autoimmune blistering disease of the elderly.** *J Geriatr Dermatol* 4:35–41
76. Zillikens D, Rose PA, Balding SD, Liu Z, Olague-Marchan M, Diaz LA, Giudice GJ (1997) **Tight clustering of extracellular BP180 epitopes recognized by bullous pemphigoid autoantibodies.** *J Invest Dermatol* 109:573–579
77. Zillikens D, Mascaro JM, Rose PA et al. (1997) **A highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating anti-BP180 autoantibodies in patients with bullous pemphigoid.** *J Invest Dermatol* 109:679–683
78. Zillikens D (1999) **Acquired skin disease of hemidesmosomes.** *J Dermatol Sci* 20:134–154
79. Zillikens D, Caux F, Mascaro JM et al. (1999) **Antibodies in lichen planus pemphigoides react with a novel epitope within the C-terminal NC16A domain of BP180.** *J Invest Dermatol* 113:127–131
80. Zillikens D, Giudice GJ (1999) **BP180/type XVII collagen: Its role in acquired and inherited disorders of the dermal-epidermal junction.** *Arch Dermatol Res* 291:187–194
81. Zillikens D, Herzele K, Georgi M, Schmidt E, Chimanovitch I, Schumann H, Mascaro JM Jr, Diaz LA, Bruckner-Tuderman L, Bröcker EB, Giudice GJ (1999) **Autoantibodies in a subgroup of patients with linear IgA disease react with the NC16A domain of BP180.** *J Invest Dermatol* 113:947–953
82. Zone JJ, Taylor TB, Meyer LJ, Petersen MJ (1998) **The 97-kDa linear IgA bullous disease antigen is identical to a portion of the extracellular domain of the 180-kDa bullous pemphigoid antigen, BPAg2.** *J Invest Dermatol* 110:207–21

Eingegangen: 23. August 1999

Angenommen: 22. September 1999