

Aus den START-Skin Research Laboratorien
Chelsea & Westminster Hospital
der Imperial College School of Medicine/London und der

Dermatologischen Klinik des
Universitätskrankenhauses Eppendorf Hamburg
Direktorin Frau Professor Moll

**Untersuchung über die Rolle von HLA Klasse I
Antigen in Psoriasis**

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Jan Peter Schilling
aus Hamburg

Hamburg 2000

Angenommen von dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg am 21.
November 2000.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
Hamburg.

Sprecher: Prof.Dr. H.-P. Leichtweiß

Referent: Prof.Dr. I. Moll

Korreferent: -

I Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1 EINFÜHRUNG	1
1.1.1 GENETISCHER HINTERGRUND	5
1.1.2 EXOGENE FAKTOREN	7
1.1.3 IMMUNOLOGISCHER HINTERGRUND	8
1.1.3.1 Humurale Komponenten/Zytokine in Psoriasis	8
1.1.3.2 Zelluläre Komponenten	12
1.1.4 BESONDERE ROLLE VON T-LYMPHOZYTEN IN PSORIASIS	13
1.1.5 HLA KLASSE I UND II ANTIGENE	16
1.1.5.1 Struktur der HLA-Moleküle	17
1.1.5.2 Funktion der HLA Moleküle	18
1.1.5.3 HLA Klasse I Antigen Expression in Geweben	20
1.1.6 THEMENSTELLUNG UND ZIELSETZUNG	20
2. MATERIAL UND METHODEN	22
2.1 PATIENTENMATERIAL	22
2.2 BIOPSIEENTNAHME	23
2.3 MATERIAL IMMUNHISTOCHEMIE	23
2.3.1 ZUSÄTZLICHE MATERIALIEN FÜR EDTA-BLUTVERARBEITUNG UND DNA-EXTRAKTION	24
2.4 GEWEBEBEHANDLUNG FÜR IMMUNHISTOCHEMIE	25
2.5 AUSWAHL DES PRIMÄREN ANTIKÖRPERS	25
2.6 INDIREKTE IMMUNOFLUORESZENZ HISTOCHEMIE	26
2.7 AUSWERTUNG	27
2.8 BLUTVERARBEITUNG UND DNA-EXTRAKTION	29
3. ERGEBNISSE	32
3.1 QUALITATIVE AUSWERTUNG	32
3.1.1 FOTOGRAFISCHE PRÄSENTATION	32
3.2 SEMIQUANTITATIVE ANALYSE	39
3.2.1 HLA KLASSE I EXPRESSION IN DER EPIDERMIS	41
3.2.2 HLA KLASSE I EXPRESSION IN DER DERMIS	44
4. DISKUSSION	45
4.1 ALTERIERTE HLA-EXPRESSION IN KÖRPERGEWEBE	46
4.1.1 STÖRUNGEN IM MECHANISMUS DER ZELLULÄREN HLA-REZEPTOR EXPRESSION	47
4.1.1.1 Analyse des Mechanismus der Ag-Präsentation im Zusammenhang mit HLA-I Molekülen und einer verminderten Expression von HLA-I	48

4.2 ERKLÄRUNGSMODELLE DES PATHOMECHANISMUS VON PSORIASIS	51
4.2.1 EINORDNUNG DER ERGEBNISSE IN DEN PATHOMECHANISMUS VON PSORIASIS	56
5. ZUSAMMENFASSUNG	58
6. LITERATURVERZEICHNIS	60
7. VERZEICHNISSE	73
7.1 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	73
7.2 TABELLENVERZEICHNIS	73
7.3 FOTOVERZEICHNIS	73
8. DANKSAGUNG	74
9. LEBENSLAUF	75

1. Einleitung

Die genaue Immunpathogenese von Psoriasis ist bis heute unbekannt, allerdings werden genetischen und exogenen Faktoren eine entscheidende Beteiligung zugeschrieben.

Neuste wissenschaftliche Veröffentlichungen der letzten Jahre haben Psoriasis in beeindruckender Weise mit einem einzigen Humanen Leukozyten Antigen (HLA) Klasse I Antigen in Verbindung gebracht: Das HLA-C Allel Cw*0602, welches man in 20% der Normalbevölkerung findet, ist mit 54% in Typ I Plaque Psoriasis-, 79% in HIV seropositiven Psoriasis- und 100% in Guttate Psoriasispatienten signifikant häufiger vertreten.

Die Rolle des HLA-Cw*0602 Moleküls bzw. der HLA Klasse I Antigene an dem Pathomechanismus von Psoriasis ist allerdings noch unbekannt. Es liegen bisher keine Erkenntnisse über die Expression von HLA Klasse I Antigenen in der Haut von Psoriasispatienten vor.

1.1 Einführung

Psoriasis ist eine der häufigsten chronisch-entzündlichen Hauterkrankungen. In Deutschland sind etwa 2-3 Millionen Bürger daran erkrankt (Deutscher Psoriasis Bund 1999). Diese, nicht nur körperlich sondern auch seelisch stark belastende Erkrankung, befällt Menschen seit Jahrhunderten (Fry 1992).

Eine erste Bezeichnung schuppiger Läsionen mit dem Begriff 'Psoriasis' (gr.: psao = ich kratze) wird Galen (133-200 v.Chr.) zugeschrieben, allerdings handelt es sich seinen Darstellungen zufolge möglicherweise um einen Patienten mit seborrhöischer Dermatitis. 200 Jahre zuvor hatte Hippokrates (460-375 v.Chr.) bereits eine schuppige Dermatose beschrieben, die er als 'lopoi' (gr.: abschilfern) bezeichnete. Die Erstbeschreibung einer psoriasisartigen Hauterkrankung mit einer heute noch gültigen Beschreibung

wird Paracelsus (25 v.Chr.-45 n.Chr.) zugestanden. Dieser nannte die von ihm beschriebenen Läsionen 'impetigo' (lat.: impetus = Ansturm, Ungestüm). Erst im Jahre 1809 führte der englische Arzt Robert Willan eine korrekte Beschreibung der verschiedenen klinischen Psoriasisvariationen ein, die auch heute noch geläufig ist.

Obwohl Menschen weltweit unter Psoriasis leiden, variiert die Erkrankung in ihrer geographischen Häufigkeitsverteilung sehr. Epidemiologische Daten zeigen einen Häufigkeitsspitzen in Nordwesteuropa [2,9 % in Dänemark (Bandrup und Holm 1982) und 2,84 % auf den Faröer Inseln (Lomholt 1963) über 1,58 % in Großbritannien (Rea 1976) und 1,43 % in den USA (US National Health Survey 1974) bis zu 0,37 % in China (Hunan) (Li 1982)].

Überhaupt nicht bekannt ist Psoriasis dagegen auf Samoa (Farber und Nall 1985).

Aus zusammenfassenden Daten (Farber und Nall 1985) läßt sich für Erwachsene nordwesteuropäischer Länder eine Prävalenz von 1,5 % errechnen. Weiterhin läßt sich eine extraeuropäische Erkrankungshäufigkeit von 2,0 % für Menschen mit europäischen Vorfahren feststellen (Stern und Wu 1996).

Zusätzlich wurden Versuche unternommen, epidemiologische Daten für verschiedene Ethnien zu erheben. So ist Psoriasis fast unbekannt bei amerikanischen Indianern (Kerdel-Vegas 1973), häufiger bei europäischen als orientalischen Juden (Tas 1947) und in Singapur häufiger bei Indern als Malayen oder Chinesen (Rajan 1998). Die Erhebung dieser Daten ist allerdings mit vielen methodischen Problemen verbunden und ihre Ergebnisse lassen sich oft nur schwer zufriedenstellend beurteilen. Einige dieser Unterschiede sind wohl eher Artefakte und darüber hinaus stark durch soziale, kulturelle und ökonomische Faktoren beeinflusst.

Beide Geschlechter werden gleich häufig von Psoriasis befallen (Hellgren 1967; Steinberg 1951), allerdings entwickeln im Vergleich zu männlichen Patienten Frauen Psoriasis in einem jüngeren Lebensalter (Henseler und Christophers

1985; Holgate 1975). In der Manifestation, bezogen auf das Alter, lassen sich zwei Typen unterscheiden (Henseler und Christophers 1985). Typ 1 manifestiert sich in jungen Lebensjahren (≤ 40 Jahre), tritt gehäuft zwischen dem 16. und dem 22. Lebensjahr auf, geht mit einer positiven Familienanamnese einher und zeigt eine signifikante Assoziation mit dem HLA-C Allel Cw*0602 (Mallon, Bunce et al. 1997). Typ 2, mit einem Manifestationsalter ≥ 40 Jahre und einer besonderen Häufigkeit zwischen dem 57. und 60. Lebensjahr, präsentiert sich klinisch häufiger mit einem sporadischen Verlauf.

Klinisch ist Psoriasis gekennzeichnet durch primär runde, scharf begrenzte Herde. Diese Herde bestehen aus einem leicht erhabenen Erythem, das von grob lamellöser, geschichteter weißer Schuppung bedeckt ist. Psoriasis ist eine Erkrankung des gesamten Integuments, jedoch sind Ellenbeugen, Knie, Kapillitium und die Lumbosakral-Region Prädilektionsstellen. Weniger häufig werden die Handflächen, Fußsohlen und die intertriginösen Hautregionen befallen. Mehr als 90 % der Patienten zeigen diese symmetrischen Plaques, das klinische Bild kann allerdings stark variieren (Stern 1997).

Der akute generalisierte Ausbruch von Psoriasis - klinisch gekennzeichnet durch zahlreiche, disseminiert angeordnete, regentropfenartige, initial erythematös und später squammöse Herde mit einem Durchmesser bis zu ca. 5 mm - charakterisiert Psoriasis Guttata, die häufigste klinische Psoriasisvariante.

Einen weiteren Subtyp stellt die Psoriasis Pustulosa dar. Diese kann als generalisierte oder aber lokalisierte Form auftreten. In ihrer schwersten Verlaufsform, der Psoriasis generalisata pustulosa, kommt es zu generalisierter Pustelbildung mit Fieberschüben, Störungen des Allgemeinbefindens, eventuell Kachexie, Störungen des Wasser-, Elektrolyt- und Eiweißhaushalts sowie einer Leukozytose. Diese Erkrankung kann tödlich verlaufen. Häufig geht dieser Psoriasisvariante eine lang andauernde systemische Steroidtherapie voraus, welche abgesetzt wurde (Baker 1986).

Mit der klinischen Präsentation korrelierend, weisen histologische Hautschnitte von Psoriasispatienten einige typische Veränderungen auf. Besonders beeindruckend sind in diesem Zusammenhang kinetische Veränderungen, wie eine veränderte Wachstums- und Reifungskinetik, die zu einer abnormen Keratinozytendifferenzierung und -hyperproliferation führen. Der Zellzyklus eines proliferierenden psoriatischen Keratinozyten beträgt 1,5 Tage, im Vergleich zu 13 Tagen in Normalhaut. Reifung und Abschilferung eines jungen Keratinozyten dauert physiologisch etwa 26 Tage, in Psoriasis lediglich 48 Stunden (Ortonne 1996). Diese Erkenntnisse sind seit längerem durch zahlreiche Untersuchungen belegt (Barker 1998). Unter anderem als sekundäres Ereignis zu diesen kinetischen Alterationen, kann die abnormale Keratinozytendifferenzierung in psoriatischer Haut verstanden werden (Weinstein und Krueger 1993).

Die histopathologischen Veränderungen im einzelnen sind Parakeratose mit Abwesenheit des Stratum Granulosum, Akkumulation von Entzündungszellen in Dermis und Epidermis, welche hier sogenannte 'Munro'-Mikroabszesse (im oder gerade unterhalb des stratum corneum) bilden. Des Weiteren sind eine Ausdünnung des Epidermisbereichs oberhalb der Papillen der Lederhaut, Akanthose der Epithelleisten der Epidermis in Form von Verlängerung und Verdickung der Enden, sowie Dilatation und verstärkte Windung der Gefäßschlingen zu beobachten.

Der Pathomechanismus, der zu den oben genannten histologischen und klinischen Hautveränderungen führt, ist weiterhin im Detail ungeklärt. Seit über 100 Jahren (Fry 1988) hält die Debatte über das primäre Ereignis, welches Psoriasis verursacht, an. 1896 berichtete R. Crocker, daß zwei Theorien über mögliche Ursachen für Psoriasis bestünden. Nach der einen seien entzündliche Veränderungen das primäre Ereignis, welche dann eine epidermale Hyperplasie zur Folge haben. Nach der zweiten Hypothese seien die entzündlichen Veränderungen der Epidermis das sekundäre - und die epidermale Hyperplasie das primäre Ereignis.

Begründet in einer Vielzahl von v.a. kinetischen Studien, favorisierte man in der medizinischen Forschung bis in die siebziger Jahre die Annahme, daß der primäre Grund für die Entwicklung von Psoriasis in epidermaler Hyperproliferation läge und die entzündliche Komponente ein konsekutives Ereignis sei. In den letzten fünfundzwanzig Jahren hat sich diese Vorstellung umgekehrt und man nimmt heute ein entzündliches Geschehen als primäre Ursache für die Pathogenese an, welches dann insbesondere die Keratinozytenalterationen induziert. Diese Theorie begründet sich vor allem auf eine Vielzahl von primär immunologischen Untersuchungen, die T-Lymphozyten eine zentrale Rolle in dem Pathomechanismus zuschreiben und hyperproliferative Epidermis als ein sekundäres Phänomen beschreiben. Darüber hinaus wurde postuliert, daß Psoriasis möglicherweise eine autoimmun-bedingte Erkrankung sei (Griffiths, Boffa et al. 1996).

1.1.1 Genetischer Hintergrund

Über eine familiäre Häufung von Psoriasis und damit über den Hinweis auf einen möglichen Vererbungsmodus, wurde bereits früh spekuliert.

1957 berichteten Höde et al. über eine Vererbungswahrscheinlichkeit von 80 % in Würzburger Familien mit Psoriasisgeschichte, die über 75 Jahre hinweg untersucht worden waren. Die frühen, *large-scale* und *population-based* epidemiologischen Studien in Skandinavien von Lomholt et al. auf den Faröer Inseln 1963 und Hellgren et al. 1967 in Schweden, zeigten außerdem eine erhöhte Inzidenz von Psoriasis bei Verwandten erkrankter Personen im Vergleich zu der normalen Bevölkerung. Eine Untersuchung monozygoter und psoriasis-erkrankter Zwillinge in Dänemark, basierend auf bevölkerungsweiten Daten des Dänischen Zwillingsregisters, wurde von Bandrup und Holm (1982) durchgeführt. Sie ergab eine Konkordanz von Zweidritteln und somit eine statistische Vererbungswahrscheinlichkeit von 91% nach der Methode von Smith et al. .

Eine retrospektive Untersuchung von Lomholts Daten nach der gleichen Methode, ergab eine ähnliche Vererbungswahrscheinlichkeit (Ananthakrishnan,

Eckes et al. 1974). Watson, Cann et al. (1972) führten eine Untersuchung mit etwas anderem Patientenmaterial durch, welche eine geringfügig abgeschwächte, aber nicht weniger beeindruckende Ziffer ergab.

Geographische Unterschiede sind in diesem Zusammenhang nicht signifikant. Darauf weist u.a. eine Untersuchung monozygoter australischer Zwillinge hin (Duffy, Spelman et al. 1993), die nur gering abweichende Werte für Vererbungswahrscheinlichkeit und Konkordanz ergab.

Neben einer großen Anzahl weiterer epidemiologischer Studien (Farber und Nall 1974) von meist kleinen Kollektiven ambulanter und stationärer Patientenpopulationen, weist die Assoziation von Psoriasis mit verschiedenen Humanen Leukozyten Antigenen (HLA), Genprodukten des Multi-Histokompatibilitätskomplex (MHC), deutlich auf eine genetische Beeinflußung dieser Erkrankung hin.

Psoriasis gehört in eine Gruppe von Erkrankungen, die signifikante HLA-Assoziationen zeigen. Zu diesen gehören u.a. Diabetes Mellitus Typ I (IDDM), Rheumatoide Arthritis, Hashimoto-Thyroiditis, Sjögren-Syndrom, Multiple Sklerose und eine Hauterkrankung wie Pemphigus Vulgaris, um nur einige zu nennen. Seit der Entdeckung des MHC Komplexes und der Entwicklung serologischer HLA-Typisierung und Untersuchungsmethoden Ende der siebziger, Anfang der achtziger Jahre, ist über eine Vielzahl von Assoziationen von Psoriasis mit bestimmten HLA-Antigen berichtet worden.

Nicht alle diese Assoziationen ließen sich bestätigen, allerdings hat sich doch die Verbindung von Psoriasis mit den HLA Klasse I Antigenen A1, B13, B17, B37, B39, Cw6 Cw11 und den Klasse II Antigenen DR4 und DR7, etabliert (Beckman 1977; Brenner, Gschnait et al. 1978; Marcusson, Johannesson et al. 1981; Murray 1980; Ohkido 1981; Ozawa, Ohkido et al. 1981; Tiilikainen 1980; Tiwari, Lowe et al. 1982; Tsuji 1977).

Vor allem die Verbindung von Psoriasis mit bestimmten HLA-C Genen ist einzigartig (Mallon, Bunce et al. 1997).

Die Einführung genetischer HLA-Typisierung mit Hilfe sequenzspezifischer *Primer* (PCR-SSP) hat zusätzliche, serologisch bisher unentdeckte HLA Allele

identifizieren können (Bunce und Welsh 1994), v.a. für den HLA-C Lokus. Von diesen ist Cw*0602 die seitdem am häufigsten beschriebene genetische Assoziation von Psoriasis. Cw*0602 wurde in gleicher Häufigkeit in unterschiedlichen Ethnien beschrieben (Ikäheimo 1994; Ozawa, Ohkido et al. 1988; Roitberg-Tambur, Friedmann et al. 1994). 1997 berichteten Mallon et al. daß 100 % der untersuchten Patienten mit Psoriasis Guttata positiv für Cw*0602 sind. Darüber hinaus tragen 79 % HIV-seropositiver Psoriasispatienten (im Gegensatz zu 24 % HIV-seropositiver Kontrollen ohne Psoriasis) und 54 % von Typ I Psoriasis Vulgaris dieses HLA-C Allel (Mallon, Young et al. 1998).

In Anbetracht dieser Forschungsergebnisse ist HLA-Cw*0602 die deutlichste bisher beschriebene Assoziation von Psoriasis mit einem bestimmte HLA Allel.

1.1.2 Exogene Faktoren

Neben den genannten genetischen Prädispositionen werden für Psoriasis als Krankheitsauslöser auch exogene Faktoren beschrieben. Hierzu zählen mechanische bzw. traumatische, infektiöse, endokrine, medikamentöse sowie psychische Faktoren.

Mechanische bzw. traumatische Hautverletzungen als Auslöser von Psoriasis (KOEBSNER-Phänomen) sind seit langem bekannt. Der auslösende Pathomechanismus ist bis heute jedoch ungeklärt. Die Größe des Traumas ist dabei unwesentlich.

Klinische und biologische Daten weisen darauf hin, daß Infektionen, bakteriell oder viral, Psoriasis auslösen können. Seit dem Ende des letzten Jahrhunderts ist bekannt, daß Erkrankungen wie Erysipel und Scharlach - beide verursacht durch einen Infekt mit β -hämolisierenden Streptokokken der Lancefield Serogruppe 'A' - den Ausbruch von Psoriasis induzieren können. Insbesondere gibt es einen Zusammenhang zwischen Halsinfektionen mit β -hämolisierenden Streptokokken und Guttate Psoriasis (Tervaert und Esseveld 1970; Chalmers, Ead et al. 1983; Chalmers und Ive 1982; Telfer, Chalmers et al. 1992; Baker,

Bokth et al. 1993). Zu einem geringen Teil wurden auch Streptokokken der Serogruppen 'C' und 'G' mit Psoriasis Guttata assoziiert (Henderson und Highet 1988).

Der Zusammenhang von Psoriasis und viralen Infektionen ist nicht sehr deutlich etabliert. Über eine Assoziation und die Rolle von dem Human Immunodeficiency Virus (HIV) (Duvic 1987) und dem Humanen Papilloma Virus 5 (HPV 5) (Favre, Orth et al. 1998) als auslösende Faktoren für Psoriasis wird diskutiert.

Auch endokrine Größen beeinflussen Psoriasis. So erreicht Psoriasis beispielsweise den Gipfel der Erkrankungshäufigkeit in den hormonalen Wechselzeiten Pubertät und Menopause. Darüber hinaus verbessert sich klinisch eine Erkrankung oft in der Schwangerschaft, während sie im Anschluß rezidiert bzw. exazerbiert.

Über eine Anzahl von Medikamenten wurde berichtet, daß sie Psoriasis auslösen können. Dazu zählen β -Blocker, Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer (ACE-Hemmer), Lithiumsalze sowie Antimalariamittel (Barker 1998).

Neben den genannten physischen, kann Psoriasis auch durch psychischen Stress, akut und chronisch, ausgelöst und dadurch der Krankheitsverlauf beeinflusst werden (Seville 1983).

1.1.3 Immunologischer Hintergrund

Neben der epidermalen Hyperproliferation ist Psoriasis vor allem durch ihre entzündliche Komponente pathophysiologisch charakterisiert.

1.1.3.1 Humurale Komponenten/Zytokine in Psoriasis

Eine Vielzahl typischer Veränderungen sind in den humoralen Anteilen des Immunsystems bei Psoriasispatienten festzustellen.

Aus der Gruppe der Zytokine sind Interleukin (IL)-6 und IL-8 vermehrt in Psoriasisplaques *in vivo* nachweisbar (Grossman, Krueger et al. 1989;

Nickoloff, Karabin et al. 1991). IL-6 ist einer der Hauptmediatoren der Reaktion des Körpers auf Trauma/Infektion, und IL-8 ist ein potenter chemotaktischer Faktor für T-Lymphozyten und neutrophile Granulozyten. Aktiviertes IL-8 ist außerdem in psoriatischen Plaques (Schroder und Christophers 1986), nicht aber in der normalen Epidermis nachzuweisen (Nickoloff 1991).

Darüber hinaus konnten *in vitro* epidermale Keratinozyten zur Produktion von IL-8 stimuliert werden (Barker, Sarma et al. 1990). Neben diesen Zytokinen ist ebenfalls IL-1 dysreguliert (Baker und Fry 1992). Es wird in diesem Zusammenhang spekuliert, daß IL-1 und IL-8 außerdem die Produktion anderer chemotaktischer Faktoren regulieren, so z.B. von *Platelet activating factor* (PAF) und Leukotrien B₄, welche beide ebenfalls in erhöhtem Maße in Psoriasis-Hautproben nachgewiesen werden können (Brain, Camp et al. 1984). Mit IL-2 wird ein weiteres Zytokin mit Psoriasis assoziiert. Es wird in psoriasisierter Haut produziert (Barker 1991) und ist *in vitro* eines der Hauptbestandteile von Überständen, gewonnen aus T-Lymphozyten, welche aus Psoriasisläsionen isoliert worden sind (Bata-Csorgo, Hammerberg et al. 1995a).

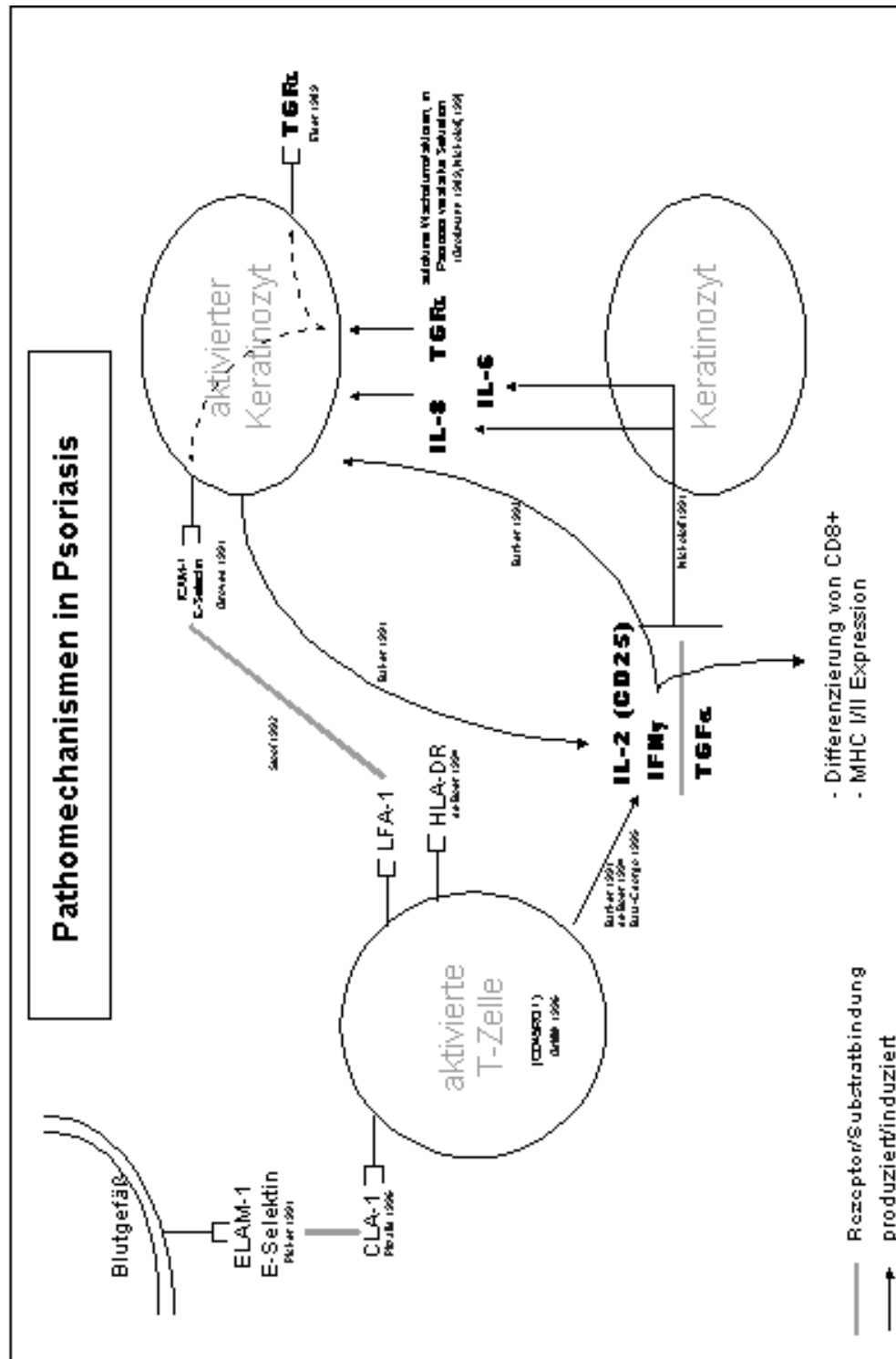
Neben den Interleukinen wird besonders Interferon- γ (IFN- γ) eine herausragende Bedeutung für einen postulierten T-zellvermittelten Pathomechanismus von Psoriasis zugesprochen. IFN- γ ist ein Botenstoff, der von aktivierten T-Lymphozyten sezerniert wird. Einige wichtige Effektorfunktionen von IFN- γ sind anti-virale Abwehrfunktion, MHC-I und -II Expression sowie die Differenzierung zytotoxischer T-Lymphozyten. Darüber hinaus führt IFN- γ direkt zu einer verstärkten Expression des potenten Mitogens TGF- α bei Keratinozyten (Nickoloff, Karabin et al. 1991). *In vivo* läßt sich in Psoriasisepidermis IFN- γ mRNA nachweisen (Barker 1991). Eine intraepidermale Applikation von IFN- γ induziert eine Hyperkeratose, Parakeratose und Akkumulation von Lymphozyten in der Epidermis, histopathologische Kennzeichen von Psoriasis. Darüber hinaus bewirkt eine

subkutane Injektion bei einem Patienten mit einer Krankheitsgeschichte von Psoriasis, aber klinisch gesunder Haut, eine punktartige psoriasisähnliche Läsion an dem Ort der Administration (Fierlbeck, Rassner et al. 1990). *In vitro* stimulieren T-Lymphozyten aus erkrankter Haut die Keratinozytenproliferation durch einen IFN- γ vermittelten Mechanismus (Bata-Csorgo, Hammerberg et al. 1995b).

Nach dem Modell von Mossman (Mossman, Cherwinski et al. 1986) gibt es zwei Zytokinprofile einer Immunantwort, Th-1 und Th-2. Jedes für sich ist exklusiv. Th-1 setzt sich vor allem aus IL-2, IL-12 und IFN- γ , Th-2 primär aus IL-4, IL-5 und IL-10 zusammen. Im Gegensatz zu atopischer Dermatitis, die einem Th-2 Profil entspricht, läßt sich Psoriasis Th-1 zuordnen (Schlaak, Buslau et al. 1994), da psoriatische Plaques hauptsächlich IL-2 und IFN- γ enthalten (Bata-Csorgo, Hammerberg et al. 1995a).

Abb.

Abbildung 1 Pathomechanismus von Psoriasis



1.1.3.2 Zelluläre Komponenten

Bereits Ende der siebziger Jahre sprachen Obalek, Haftek et al. (1977) und Krueger, Jederberg et al. (1978) von einem zellvermittelten Immunprozeß in Psoriasis.

Betrachtet man immunhistochemisch Schnitte befallener Hautbezirke, dann lassen sich in Epidermis und Dermis entzündliche Infiltrate beschreiben, die vor allem aus T-Lymphozyten bestehen (Bjerke, Krogh et al. 1978). Immunophänotypische Studien immunkompetenter Zellen in exazerbierten Läsionen von Psoriasis ergeben ein detailliertes Bild (Bos, Hulsebosch et al. 1983).

In der Epidermis finden sich vor allem Granulozyten in den Munro-Mikroabzessen, eine geringere Anzahl von Langerhans-Zellen und sporadisch T_{suppressor} bzw. T_{killer} (CD 8+) Zellen. In der Dermis sind die entzündlichen Infiltrate hauptsächlich aus T_{helfer} bzw. T_{effector} (CD 4+) Zellen und einigen CD 8+ven Zellen zusammengesetzt. In der Untersuchung von Bos et al konnten keine B-Zellen und/oder Plasmazellen demonstriert werden.

Mit der Entwicklung neuer und spezifischerer Antikörper wurden eine Vielzahl immunhistochemischer Versuche möglich, die im wesentlichen die frühen Beobachtungen bestätigen, allerdings zusätzlich neue Möglichkeiten in der Differenzierung von Zellsubpopulationen zuließen. 1984 untersuchten Baker, Swain et al. (1984a) in einer detaillierten Studie frühe Hautläsionen von Patienten mit Psoriasis Guttata. In einem frühen Stadium sich entwickelnder Effloreszenzen kommt es zu einer epidermalen Einwanderung und zur Aktivierung von CD 4+ en T-Lymphozyten. Die Resolution von Plaques ist dagegen mit einem erhöhten epidermalen Influx und der Aktivierung von CD 8 +en T-Lymphozyten assoziiert. CD 8+ve T-Lymphozyten dominieren außerdem in Läsionen von Guttate Psoriasis (Ramirez-Bosca, Martinez-Ojeda et al. 1988). Infiltrate in der Dermis sind vor allem aus T-Lymphozyten und Makrophagen, mit nur sehr geringen Anteilen von B-Lymphozyten oder

Makrophagen zusammengesetzt (Baker, Brent et al. 1992). In einem SCID-Maus (*severe combined immunodeficiency*) Tiermodell konnte 1996 bewiesen werden, daß die Injektion von autologen Immunozyten in klinisch gesunde Haut psoriasisartige Läsionen hervorruft (Wrone-Smith und Nickoloff 1996).

Weitere Alterationen zellulärer Komponenten des Immunsystems betreffen die Monozyten und neutrophile Granulozyten. Dysfunktionen der Monozyten verursachen eine verstärkte Chemotaxis immunkompetenter Zellen, welche auch in nicht-erkrankten Personen persistiert (Krueger, Jederberg et al. 1978). Bei unbehandelten Psoriasispatienten, die keine andere Infektion haben, lassen sich erhöhte neutrophile Granulozyten im peripheren Blutausschrieb nachweisen, welche funktionell eine verstärkte Adhäsion zu Gefäßendothel *in vitro* zeigen (Sedgwick, Bergstresser et al. 1980). Alle diese Alterationen sind allerdings eher ein sekundäres denn ein intrinsisches Phänomen.

1.1.4 Besondere Rolle von T-Lymphozyten in Psoriasis

Wie bereits dargelegt, stellen T-Lymphozyten eine zentrale Rolle für den Pathomechanismus von Psoriasis dar. 1986 formulierte Valdimarsson die Theorie, daß aktivierte T-Zellen in Psoriasisläsionen Zytokine absondern, welche den psoriatischen Prozeß durch eine Stimulation von Keratinozyten initiieren und unterhalten. Wie bereits näher erläutert, infiltrieren T-Lymphozyten frühzeitig in sich-entwickelnden Psoriasisplaques (Baker, Swain et al. 1984a). Fast alle infiltrierenden und akkumulierenden Entzündungszellen in einem Plaque sind T-Lymphozyten (CD 3+) vom *Memory*-Typ, CD 45 RO+ (Griffiths und Voorhees 1996).

Darüber hinaus sind ausreichend Beweise dafür vorhanden, daß diese T-Lymphozyten aktiviert sind. Sie exprimieren die Zelloberflächenrezeptoren für IL-2 (CD 25) (de, van der Loos CM et al. 1994) und außerdem HLA-DR (Valdimarsson, Baker et al. 1986), die als Marker für aktivierte T-Lymphozyten gelten. Außerdem sezernieren T-Lymphozyten Zytokine, IL-2 und IFN- γ , die als Synonym für Lymphozytenaktivierung gelten. Diese sind

Hauptbestandteile von Überständen, gewonnen aus T-Lymphozytenklonen, welche zuvor aus Psoriasisplaques isoliert worden waren (Bata-Csorgo, Hammerberg et al. 1995b). Darüber hinaus kann IFN- γ und IL-2 mRNA in Psoriasisplaques nachgewiesen werden (Barker, Karabin et al. 1991).

Neben diesen Veränderungen ist das Gefäßendothel in erkrankten Hautbereichen aktiviert und exprimiert verstärkt das *Endothelial-leucocyte-adhesion-molecule 1* (ELAM-1/E-selectin) (Groves, Allen et al. 1991). ELAM-1 ist für Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten und eventuell auch Monozyten verantwortlich. Viel entscheidender ist allerdings, daß ELAM-1 das Gefäßadhäsionsmolekül für *skin homing T-memory* Zellen ist (Picker, Kishimoto et al. 1991).

Da, wie bereits erwähnt, fast alle T-Lymphozyten in einem Plaque CD 45RO+ve sind und das Kutane Lymphozytenassoziierte Antigen 1 (engl. *Cutaneous lymphocyte-associated antigen 1*, CLA 1), den "skin homing receptor" (Pitzalis, Cauli et al. 1996), exprimieren, ist dies ein weiterer Beweis für die entscheidende Rolle von T-Lymphozyten im Pathomechanismus von Psoriasis.

Darüber hinaus ist in den befallenen Hautbereichen das *Intra-cellular-adhesion-molecule-1* (ICAM-1) verstärkt nachweisbar (Groves, Allen et al. 1991). ICAM-1 ist der Ligand für das Lymphocyte-function-associated-molecule 1 (LFA-1), welches von T-Lymphozyten exprimiert wird. So sind intraepidermale T-Zellen in der Lage, an Keratinozyten zu binden (Griffiths, Voorhees et al. 1989) und mit ihnen parakrin zu interagieren.

Die Erfolge einer immunosuppressiver Therapie bei Psoriasispatienten, die besonders gegen T-Lymphozyten gerichtet ist weisen ebenfalls auf eine immunogene Beteiligung im Pathomechanismus hin. Dies beinhaltet Cyclosporin (Griffiths, Powles et al. 1986; Ellis, Fradin et al. 1991) - ein alkylierendes Stickstofflost-Derivat - , chimäre anti-CD 4 Antikörper (Prinz, Braun-Falco et al. 1991), Tacrolimus (Jegasothy, Ackerman et al. 1992) - ein

Makrolid, welches die Zytokinproduktion aktivierter T-Lymphozyten inhibiert - und DAB₃₈₉-IL-2 (Gottlieb, Gilleaudeau et al. 1995) - eine Fusion aus IL-2 und Diphtherietoxin, welches aktivierte T-Lymphozyten, die den IL-2 Rezeptor exprimieren, bekämpft -.

Mit diesen Berichten wird ein indirekter Beweis für die entscheidende Beteiligung von T-Lymphozyten in der Pathogenese von Psoriasis gegeben.

Zwei Berichte von Patienten mit Knochenmarktransplantationen stützen außerdem die These einer zentralen T-Zell-Beteiligung. Ein Patient, der unter schwerer Psoriasis litt, konnte kurativ behandelt werden, indem er eine Knochenmarktransplantation von einem nicht erkrankten Angehörigen erhielt (Eedy, Burrows et al. 1990). In einem umgekehrten Fall entwickelte ein zuvor klinisch gesunder Mensch Psoriasis, nachdem er eine Knochenmarkstransplantation von einem an Psoriasis erkrankten Verwandten erhalten hatte (Gardembas-Pain, Ifrah et al. 1990).

Die bereits erwähnten Assoziationen mit bestimmten HLA Genloci, hier vor allem Cw*6 bzw. Cw*0602 und DR7, stellen nicht zuletzt eine starke Verbindung zwischen Psoriasis und T-Lymphozyten her. Die erwähnten HLA Antigene sind Oberflächenantigene und notwendig für eine T-Lymphozyten vermittelte Immunantwort. Besonders deutlich wird der Zusammenhang durch die Tatsache, daß Psoriasis im *linkage-desequilibrium* mit einem Genlocus, der innerhalb des MHC-Komplexes auf dem Chromosom 6p21 lokalisiert ist, liegt (Trembath, Clough et al. 1997).

Andere Studien, die systemische Immunreaktionen und die Rolle von Antigen-stimulierten T-Lymphozyten beschreiben (Baker, Swain et al. 1984b; Baker, Bokth et al. 1993), deuten ebenfalls auf die herausragende Stellung der T-Lymphozyten hin.

Gegenstand einer starken Kontroverse ist die Frage, welcher Subtyp der T-Lymphozyten, CD 4+ und/oder CD 8+, primär in den Pathomechanismus von Psoriasis verwickelt ist. Darüber hinaus ist der genaue Ablauf dieses Mechanismus nicht genau geklärt und wird gegensätzlich diskutiert.

1.1.5 HLA Klasse I und II Antigene

Um die Rolle der HLA Antigene in den Pathomechanismus von Psoriasis einordnen zu können, ist das Verständnis ihrer Struktur und Funktion Voraussetzung.

Die Fähigkeit eines Organismus, fremdes Gewebe abzustößen und somit 'selbst' von 'nicht-selbst' zu unterscheiden, konnte einer bestimmten Genregion zugeschrieben werden, die man als 'Multihistokompatibilitätskomplex' (MHC) bezeichnet. Der humane MHC, 'Humaner Leukozyten Antigen Komplex' (HLA), ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 (6p) lokalisiert. Eine Untereinheit, das beta-2 Mikroglobulin (β_2m) ist auf dem Chromosom 15 codiert (Goodfellow PN, Jones EA et al. 1975). Die bedeutendsten Genprodukte des MHC Komplexes sind Klasse I, II und III Moleküle (HLA Klasse I bzw. II, III Antigene).

1.1.5.1 Struktur der HLA-Moleküle

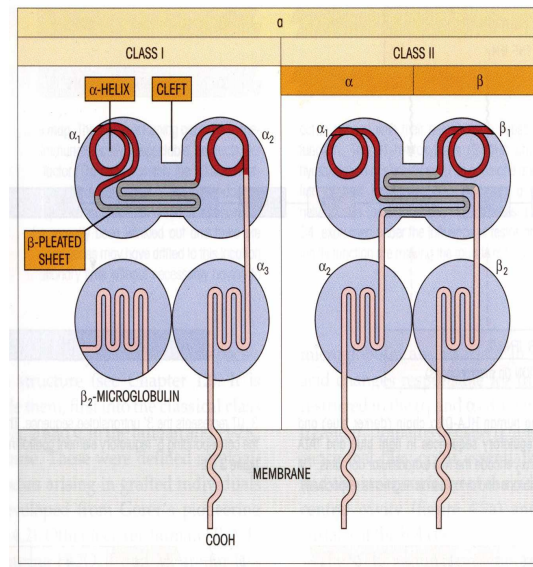


Abbildung 2 Struktur der HLA Klasse I und II Antigene. Verändert nach Bjorkman, Saper et al. 1987

Klasse I und II Moleküle sind membrangebundene Heterodimere (membranassoziierte Glykoproteine). Ihre Struktur konnte mit Hilfe der Röntgenkristallographie näher aufgeklärt werden (s. Abb. 2).

Das Gerüst der Klasse I Moleküle bildet eine 45 KDa schwere glykosylierte Polypeptidkette (engl. *heavy chain*), die eng mit einem 12 KDa leichten Polypeptid (engl. *light chain*), dem beta 2 Mikroglobulin (β_2m), assoziiert, aber nicht kovalent gebunden, ist.

Die variable Domäne, die *heavy chain*, setzt sich aus drei Segmenten zusammen. Diese sind drei extrazelluläre Ketten ($\alpha_1\alpha_2\alpha_3$), ein transmembranöses Polypeptid und eine hydrophile, zytoplasmatische Region. Eine ausgedehnte Grube zwischen den α -Helices der α_1 und α_2 Ketten konstituiert die Bindungsstelle für prozessiertes, fremdes Antigen. Die Wände und der Boden dieser Grube sind die Orte größten Aminosäurepolymorphismus. Die *heavy chain* besitzt also einen variablen und einen konstanten Anteil.

Das beta 2 Mikroglobulin (β_2m), die konstante Domäne *light chain*, besteht aus einem monomorphen Protein. Dieses bildet eine Ig-Falte aus. In seiner Struktur ähnelt es stark den Antikörpermolekülen, die auch als Immunglobuline (Ig) bezeichnet werden. Darüber hinaus besteht mit der konstanten Region der Immunglobuline eine starke Sequenzhomologie. Für das β_2m kodiert nicht der MHC auf dem Chromosom 6, sondern das Chromosom 15. Die Assoziation mit β_2m ist notwendig für die Expression von Klasse I Antigen an der Zelloberfläche sowie zur Stabilisierung der Klasse I Struktur.

Klasse II Moleküle sind ebenfalls transmembranöse Proteine und strukturell ähnlich aufgebaut. Dies bedeutet, daß Klasse I und II Moleküle eine große Sequenzhomologie besitzen. Die Grundstruktur der Klasse II Moleküle besteht aus zwei 34 KDa schweren, α_1 und α_2 *heavy chains* und zwei 28 KDa leichten, β_1 und β_2 , Ketten *light chains*. Die am weitesten distal der Membran gelegenen Domänen, α_1 und β_1 , bilden, ähnlich α_1 und α_2 der Klasse I, eine Bindungsgrube für antigene Peptide.

Eine heterogene Gruppe bilden die Klasse III Moleküle. Sie umfaßt Komplementfaktoren, die mit der Formation der C 3 Konvertase in Verbindung stehen, sowie Hitze-Schock-Proteine (engl. *heat shock proteins*) und Tumornekrosefaktor (TNF).

1.1.5.2 Funktion der HLA Moleküle

Ursprünglich wurden die MHC Moleküle in der Immunreaktion auf Transplantate entdeckt und tragen daher die Bezeichnung 'Histokompatibilitätsantigene'. Sie haben allerdings vielfältige Funktionen. Besonders für die Immunantwort des Körpers spielen sie als Zelloberflächenrezeptoren eine wichtige Rolle (Erkennung von 'selbst' und 'nicht-selbst').

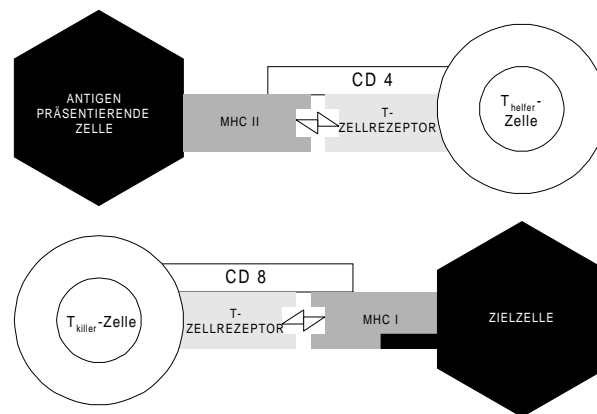


Abbildung 3 T_{helfer} und T_{killer} Zellen sind MHC beschränkt

1996 erhielten Zinkernagel und Doherty den Nobelpreis für die Beobachtung, daß zytotoxische T-Zellen eines Organismus, der mit einem bestimmten Virus infiziert war, nur virusinfizierte Zellen gleichen MHC Haplotyps¹ bekämpfen (Zinkernagel RM und Doherty PC 1979). Für die T-zellvermittelte Antigenerkennung im Rahmen einer Immunantwort spielen MHC Moleküle *die* zentrale Rolle.

Klasse I Moleküle, auf fast allen kernhaltigen Zellen präsent, signalisieren zytotoxischen (CD 8+) T-Zellen. HLA Klasse II Antigene sind besonders mit B-Zellen und Makrophagen assoziiert. Ihre Expression kann allerdings auf einer Vielzahl von Zellen, beispielsweise Endothel- und Epithelzellen, durch γ -Interferon induziert werden.

Die Funktionen der HLA Moleküle sind in Abbildung 4 aufgeführt.

¹ Ein bestimmter MHC-Gen-cluster wird als Haplotyp bezeichnet. Er wird gewöhnlich *en block* vererbt.

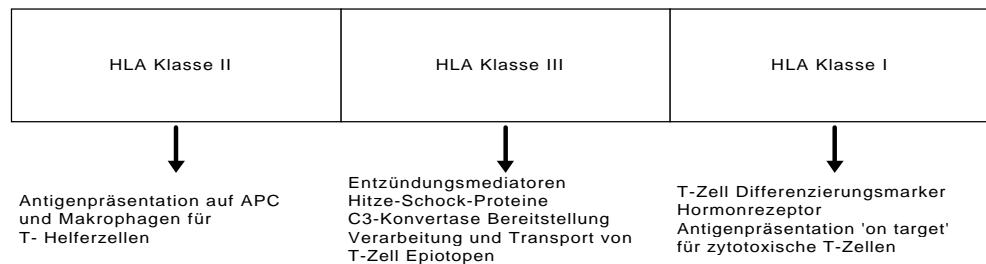


Abbildung 4 Funktionen der HLA Klassen

1.1.5.3 HLA Klasse I Antigen Expression in Geweben

Klasse I Antigene sind auf kernhaltigen menschlichen Zellen und Thrombozyten weit verbreitet (Daar, Fuggle et al. 1984). Vor allem werden sie auf lymphatischen Zellen, weniger stark in Leber, Lunge und Niere, sowie selten in Hirn- und Muskelgewebe expremiert. Die Ausprägung von HLA-I auf Zellen des villösen Throphoblasten bei der Schwangerschaft fehlt. Die Stärke ihrer Expression auf unterschiedlichen Zellarten und in pathologischen Situationen variiert stark. So können beispielsweise maligne Zellen keine HLA-I Antigene präsentieren (Fleming, McMichael et al. 1981), während im Gegensatz dazu Hepatozyten bei einer alkoholinduzierten Hepatitis eine verstärkte Expression von HLA Klasse I zeigen (Barbatis, Kelly et al. 1987).

In Normalhaut ließen sich in der Epidermis Keratinozyten vom stratum basale bis ins stratum granulosum, nicht jedoch im stratum corneum, auf ihrer Zelloberfläche positiv für HLA Klasse I färben (Harrist, Ruitter et al. 1983). Neben den Keratinozyten sind Langerhanszellen und eventuell auch Melanozyten (Gielen, Schmitt et al. 1988) positiv für HLA Klasse I.

In der Dermis färben sich Endothelzellen der Gefäße, Epithelien der Drüsenausführungsgänge, dendritische Zellen im subinfundibulären Bereich der Haarfollikel und ebenso Keratinozyten des dort lokalisierten Epithels.

1.1.6 Themenstellung und Zielsetzung

Psoriasis ist eine chronisch entzündliche Hauterkrankung, deren Pathomechanismus noch immer nicht völlig aufgeklärt ist.

Zwei Komponenten scheinen bei der Beantwortung dieser Frage eine besondere Rolle zu spielen: genetische Prädisposition und eine unkontrolliert ablaufende Entzündungsreaktion in der Haut.

Noch immer fehlt eine entscheidende Verknüpfung (“missing link”) beider Stränge.

Eine mögliche Verbindung besteht in einer genetischen Prädisposition für bestimmte Rezeptormoleküle an der Zelloberfläche, HLA Moleküle, die für die Auslösung und die Art und Weise des Ablaufs einer Immunantwort von entscheidender Bedeutung sind.

Wie bereits näher erläutert, besteht eine genetische Prädisposition für Psoriasis, besonders in dem HLA Klasse I Gen C und hier vor allem in dessen Allel Cw*0602.

Um einen Zusammenhang dieser genetischen Prädisposition mit dem Immunpathomechanismus von Psoriasis herstellen zu können, ist die Frage nach der Expression dieses Rezeptors von elementarer Bedeutung.

Deshalb wurden in dieser Arbeit Untersuchungen der HLA-Klasse I Antigen Expression in je einem klinisch befallenen und einem nicht-befallenen Hautareal von Psoriasispatienten sowie in einer Kontrollgruppe von Normalhaut, mittels indirekter Immunfluoreszenz durchgeführt. Bei einem Teil der Patienten mit Plaquepsoriasis handelte es sich um HIV-seropositive Patienten.

Ziel der Arbeit ist es, die Expression von HLA Klasse I Antigenen in klinisch befallenen und klinisch gesunden Hautarealen von Patienten mit Guttate Psoriasis und Plaque Psoriasis sowie in Normalhaut zu bestimmen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientenmaterial

Bei allen Patienten handelt es sich um Personen, bei denen in der dermatologischen Ambulanz des Chelsea & Westminster Hospital eine Ersterkrankung an Psoriasis Vulgaris oder -Guttata klinisch diagnostiziert wurde. Zusätzlich wurden bei den Patienten der Guttata Gruppe der Anti-Streptolysin O Titer (ASO) bestimmt, sowie eine histopathologische Beurteilung durchgeführt.

Alle Patienten der Studie standen bei der Diagnose und Biopsieentnahme nicht unter systemischer Pharmatherapie.

Die Patienten wurden gemäß den örtlichen ethischen Bestimmungen freiwillig für die Entnahme einer Biopsie gewonnen und willigten schriftlich ein.

Der HLA Genotyp für einige der Patienten war bereits durch frühere Sequenzierung mit sequence specific primers (SSP-PCR) bekannt (Mallon, Bunce et al. 1997). Von den noch nicht typisierten Patienten wurde Blut in 5 ml EDTA Gefäßen zur DNA-Extraktion entnommen.

Bei den HIV-seropositiven Patienten trat die Psoriasis als ein Hautsymptom im Verlauf einer HIV-Infektion auf.

Von 29 Personen wurden Biopsien untersucht, bei den Psoriasispatienten jeweils eine aus einem befallenen und eine aus einem unbefallenen Hautareal pro Patient. Diese Gruppe bestand aus 13 Psoriasis Vulgaris Patienten - davon waren 5 Patienten HIV-seropositiv -, 9 Patienten mit Psoriasis Guttata und 7 Kontrollen 'Normalhaut'.

Die Personen der Gruppe 'Normalhaut' bestand aus klinisch gesunden Freiwilligen, denen gemäß den örtlichen ethischen Bestimmungen und nach schriftlicher Einwilligung eine Biopsie entnommen wurde.

2.2 Biopsieentnahme

Gemäß den örtlichen ethischen Bestimmungen wurden den für das Projekt gewonnen Patienten zwei 4 mm Stanzbiopsien entnommen. Je eine der Biopsien stammte aus einem klinisch befallenen Hautbezirk und einem klinisch gesunden Hautareal.

2.3 Material Immunhistochemie

Antikörper

primärer Antikörper (1):	HLA-A,B,C-Antikörper (NOVOCASTRA-Laboratories Ltd, NCL-HLA-ABC mouse 208501 1 ml)
primärer Antikörper (2):	HLA-A,B,C Antikörper (DAKO Cooperation, NCL-HLA-A,B,C mouse M 0736 clone W 6/32)
isotyp-matched unspezifischer Maus Antikörper:	unspezifischer Maus IgG Antikörper (SIGMA I-5381, Mouse, 1 ml)
sekundärer Antikörper:	Kaninchen Anti-Maus-IgG FITC Konjugat (SIGMA F-9137 1 ml)

Puffer und Lösungen

PBS-Stammlösung: (Phosphatgepufferte Kochsalzlösung)	1 Tablette PBS (SIGMA PBS Tabletten P4417) in 200 ml destilliertem Wasser
Objektträgerbeschichtung:	Poly-L-Lysine SIGMA P-8920
Pontamine Sky Blue 6 BX: (GURR)	GURR-Microscopy Materials, Certistainindex Nr. 24410
Verdünnungsmedium für primäre Antikörper:	DAKO-Ak-Verdünnungsmedium (DAKO S 3022, Hamburg)
Blocklösung:	15.0 µl Blockserum (Vectastain <i>Elite</i> ABC Kit, Vector labs PK 6101) in

Einbettungsmedium: 1000 µl kaltem sterilen PBS
Cryo-M-Einbettungsmedium (BRIGHT INSTRUMENTS):
DAKO Fluorescent Mounting Medium (DAKO Cooperation S 3023)

Chemikalien

Aceton: BDH CHEMICALS 100034 Q

Geräte

Mikrotom: Kryostat (SLEE, Mainz)
Mikroskop: ZEISS Standard Mikroskop mit einem Ultraviolettfilter von 495 nm bis 525 nm
Gefrierschrank (4°C, -20°C): HOOVER
Zentrifuge: MSE Micro Centaur (SCOTLAB)
Wasserbad: GRANT Y28 (GRANT Instruments, Cambridge)
Deckgläser: Cover slips for UV, 22x22 mm, No 0 (BDH CHEMICALS 406/0187/31)
Objektträger: BDH Superfrost 406/0169/04
Kunstlichtfilm: Kodak, Exaktachrom EPY 64 T

2.3.1 Zusätzliche Materialien für EDTA-Blutverarbeitung und DNA-Extraktion

Puffer und Lösungen

Universaler QIAamp Blood Kit: QIAamp Blood Kit (250) 29106, QIAGEN, Deutschland
Ethyldiamin Tetressigsäure: EDTA-Blutsammelröhrchen (EDTA)

Chemikalien

100% Ethanol:	Ethanol 99.7% v/v (BDH-AnalaR 10107, 2,5l)
RNase:	Puregen-RNase (PURGEN D-50006, 4 mg/ml)
Proteinase K:	SIGMA Molekular Proteinase-K P-2308, 4 mg/ml

2.4 Gewebebehandlung für Immunhistochemie

Gewebeproben für die Immunhistochemie wurden nach der Biopsieentnahme unverzüglich in flüssigem Stickstoff schockgefroren und Patientendetails in einem speziell dafür vorgesehenen Buch festgehalten. In Cryo-M-Embed compound wurden die Biopsien dann eingebettet und in einem Kryostat bei -29°C in 6 µm dünne Scheiben geschnitten. Die Schnitte wurden auf mit Poly-L-Lysin beschichtete Objektträger - jeweils drei oder vier Schnitte auf jedem Objektträger - aufgetragen und für mindestens 60 Minuten bei Raumtemperatur² (RT) luftgetrocknet. Um ein möglichst voneinander unabhängiges Ergebnis zu erhalten, wurden jeweils nicht aufeinander folgende, sondern jeder zehnte Schnitt auf einen jeweiligen Objektträger aufgebracht. Anschließend wurden die Schnitte für 10 Minuten in eiskaltem Aceton fixiert und für ebenfalls mindestens 60 Minuten bei RT luftgetrocknet. Die Präparate wurden jetzt entweder sofort zur Immunhistochemie verwandt, oder aber bei -20°C bis zu ihrer Verwendung gelagert.

2.5 Auswahl des primären Antikörpers

Barnstable, Bodmer et al. 1978 den von mir verwandten primäre Antikörper (1) [NOVACAstra-Lab.] gegen HLA Klasse I Antigene. Seitdem wurde dieser vielfach zur sicheren Beurteilung von HLA Klasse I Antigenen in verschiedenen Geweben und Organsystemen verwandt.

² 20°C

Der von mir zu Kontrollzwecken verwendete primäre Antikörper (2) [DAKO Cooperation], ebenfalls gegen HLA Klasse I Antigene gerichtet, zeigte ein gleiches Färbeverhalten.

Beide Antikörper sind gegen ein 45 kDa Epitop auf der *heavy chain* gerichtet, welches nicht-kovalent mit β_2 -m assoziiert ist. Sie binden somit an den konstanten Anteil der variablen Kette der HLA Klasse I Antigene.

Prinzipiell kann man monoklonale Antikörper (MCA) gegen das HLA System in zwei Gruppen einteilen: monomorphe MCA, welche an eine konstante (isotypische) Struktur der HLA, und polymorphe MCA, welche an variablen Gruppen (allotypisch) binden. Beide Gruppen gleichen sich im Bindungsverhalten gegen HLA Klasse I Antigene (Gielen, Mauduit et al. 1987). Ihr Bindungsverhalten gegen HLA Klasse I in der Haut von Menschen ist gleich (Harrist, Ruitter et al. 1983).

2.6 Indirekte Immunofluoreszenz Histochemie

Zur Immunhistochemie verwandte Objektträger wurden entweder unmittelbar nach deren Herstellung und Fixation oder aber nach ihrer Lagerung bei -20°C und nach ihrer Erwärmung auf RT, zweimal für jeweils fünf Minuten in PBS gewaschen. Zur Unterdrückung unspezifischer Hintergrundfluoreszenz (Cowen, Haven et al. 1984) wurde eine dreißigminütige Färbung mit Pontamine Sky Blue durchgeführt. Anschließend wurden die Objektträger zwei weitere Male für je fünf Minuten in PBS gewaschen.

Die erste Inkubation mit $100\ \mu\text{l}$ Blockserum pro Objektträger erfolgte bei RT in einer mit PBS befeuchteten Box für 25 Minuten. Nach abgeschlossener Inkubation wurde überschüssiges Blockserum abgeschüttelt und die Ränder des Objektträgers um die Schnitte mit Papier sorgfältig getrocknet.

Die Markierung der Schnitte erfolgte nun mit primären monoklonalen Maus-Antikörpern (primärer Antikörper (1)). Der monomorphe Maus IgG Antikörper ist gegen ein konservatives Epitop auf dem 45 kD Polypeptidprodukt des HLA-A,B,C Locus gerichtet.

Mit 100 µl primärem Antikörper wurden die Schnitte über Nacht bei 4°C in einer mit PBS befeuchteten Box inkubiert.

Am folgenden Tag wurden die Schnitte mit PBS abgespült und für fünf Minuten in einem PBS-Bad gewaschen. Es folgte die Inkubation mit dem sekundären Antikörper, der mit einem Titer von 1/1000 in einer kalten sterilen Pufferlösung aus PBS vorbereitet wurde. Die Inkubation der Objektträger erfolgte bei RT für 30 Minuten in einer mit PBS befeuchteten Box. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Schnitte erneut mit PBS gewaschen. Überschüssig vorhandener sekundärer Antikörper wurde so entfernt. Danach wurden die Schnitte für fünf Minuten in PBS gewaschen.

Überschüssiges PBS wurde abgeschüttelt und die Ränder des Objektträgers um die Schnitte sorgfältig mit Papier getrocknet. Unter Verwendung von DAKO Fluoreszenz Mounting Medium wurden 20x20 mm Objektträger aufgetragen. Die Lagerung der Präparate erfolgte im Dunkeln.

Der optimale Titer des primären und sekundären Antikörpers wurde von mir in Vorversuchen ermittelt. Ein Titer von 1/20 des primären, sowie 1/1000 des sekundären Antikörpers, verdünnt in DAKO-Verdünnungsmedium, wurde schließlich verwandt. Die Titer des primären und sekundären Antikörpers wurden so bestimmt, daß sich ein optimaler Kontrast zwischen markiertem Gewebe und einer geringen Hintergrundaktivität ergab.

Die Spezifität des primären Antikörpers wurde von mir durch zwei Kontrollexperimente ermittelt. Nach dem oben beschriebenen Protokoll wurden aufeinanderfolgende Schnitte zum einen mit *isotyped-matched* unspezifischem Maus IgG und zum anderen mit primärem Antikörper (2) eines anderen industriellen Anbieters behandelt und untersucht.

2.7 Auswertung

Ein ZEISS Standard Mikroskop mit einem Ultraviolettfiter von 495 nm bis 525 nm Spektrum diente zur Auswertung der angefärbten Schnitte. Je sechs nicht aufeinander folgende Schnitte je einer klinisch gesunden und einer klinisch erkrankten Hautprobe eines Patienten wurden von zwei Personen

unabhängig voneinander untersucht. Die Messungen wurden verblindet vorgenommen, so daß dem Untersucher keine Patientendetails bekannt waren. Die Intensität der Immunreaktivität (Stärke der Antikörperanfärbung) wurde nach folgender, etablierter Einteilung vorgenommen:

Symbol:

-
- +
- ++
- +++

Bedeutung:

- keine Immunreaktivität
- schwache Immunreaktivität
- mäßige Immunreaktivität
- starke Immunreaktivität

Bestimmte Strukturen, illustriert in den Abb. 5 und 6, wurden untersucht und die Ergebnisse in eine Tabelle eingetragen.

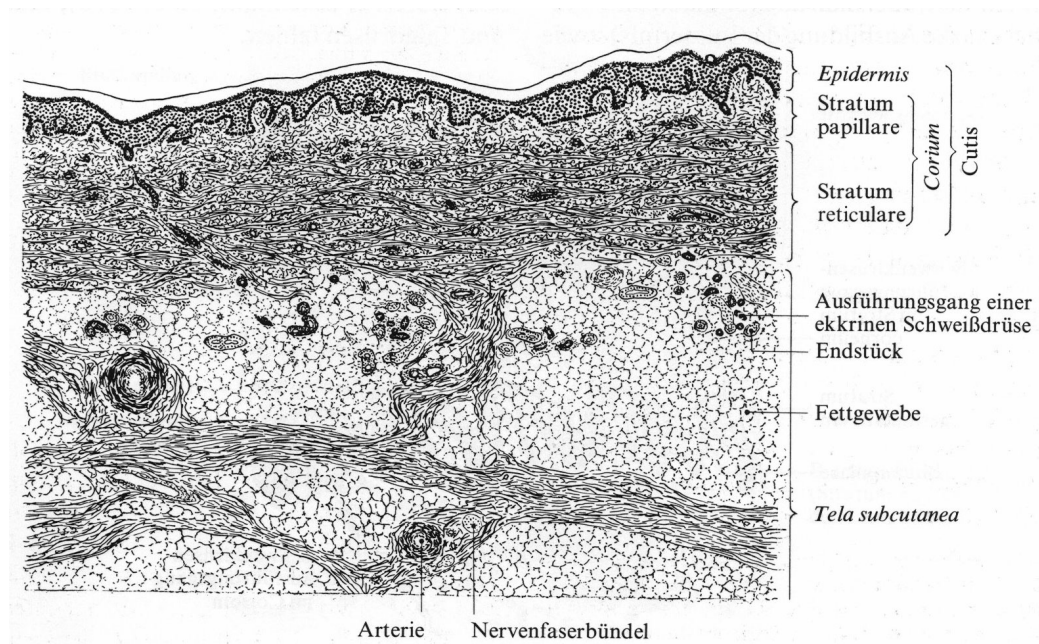


Abbildung 5 Senkrechter Schnitt durch die menschliche Haut. Übersicht über verschiedene Schichten (30x). Verändert nach Bucher O und Wartenberg H 1992.

In der Epidermis, als primärem Ort des pathologischen Geschehens bei Psoriasis, wurden die Schichten des stratum basale, stratum spinosum, stratum

granulosum, stratum corneum, sowie sporadisch vorhandene entzündliche Infiltrate bewertet.

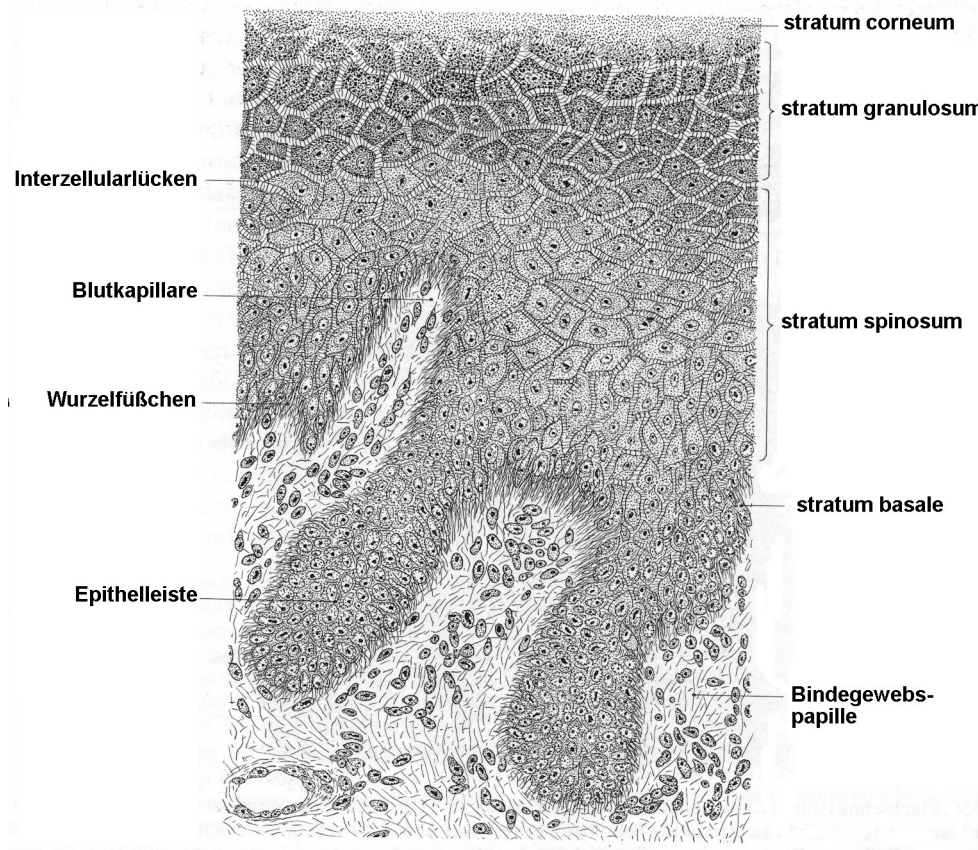


Abbildung 6 Epidermis der Fingerbeere des Menschen (stratum corneum nur angeschnitten). Verändert nach Bucher O und Wartenberg H 1992.

Die Anfärbung von dermalen Strukturen (Endothel, sporadisch vorhandenen entzündlichen Infiltraten, Fibrozyten, entzündlichen Infiltraten sowie Hautanhanggebilde) wurde ebenfalls durchgeführt.

Das Ergebnis der Versuche wurde fotografisch auf einem Kodak Exaktachrom EPY 64 T Film festgehalten.

2.8 Blutverarbeitung und DNA-Extraktion

Patienten, deren HLA Genotyp noch nicht bekannt war, wurde, nach deren Einwilligung gemäß den örtlichen ethischen Bestimmungen, zwei 5 ml EDTA-Blut venös entnommen.

Jedes 5 ml Blutröhrchen wurde dann in zwei gleiche Volumina in sterile Gefäße aufgeteilt und entweder bei -20°C gelagert oder aber direkt zur DNA-Extraktion verwandt.

Gemäß den Angaben des 'QIA Blood Kit and QIA Tissue Kit Handbook 01/97' wurde dann die Extraktion genomischer DNA aus Blutzellen durchgeführt.

Von dem EDTA-Blut, welches Raumtemperatur (RT) hatte, wurde 400 µl Blut in ein steriles 1,5ml Eppendorf-Zentrifugenröhrchen gegeben. Das Zentrifugenröhrchen war zuvor mit Patientendetails beschriftet worden. Pro Patient wurden zwei Zentrifugenröhrchen gefüllt. 400 µl Blut Startvolumen ergibt nach dem Herstellerprotokoll 8-14 µg DNA. Dieses ist genügend DNA, um den gesamten Genotyp zu bestimmen.

Zu den 400 µl EDTA-Blut wurde 2 µl RNase hinzugefügt, um reine DNA zu erhalten. Des weiteren wurde 400 µl Reaktionspuffer AL und 50 µl Proteinase K hinzugefügt. Dieses Gemisch wurde für 15 sec über dem Whirlmix durchgemischt und dann bei 70°C für 10min inkubiert. Die Proteinase K diente der Zellyse um die genomische DNA erreichbar zu machen.

Nach der Inkubation wurde dem Gemisch 420 µl 100 % Ethanol zugegeben und über dem Whirlmix gut durchgemischt.

Von dem Hersteller bereitgestellte QIAamp-Zentrifugenröhrchen mit QIAamp-Spezialfilter wurden in 2 ml Zentrifugenauffangröhrchen plaziert und mit Patientendetails beschriftet. Das Reaktionsgemisch wurde nun in diese QIAamp-Zentrifugenröhrchen gefüllt und für eine Minute in einer SCOTLAB Standard-Mikrozentrifuge bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde dann verworfen und das QIAamp-Zentrifugenröhrchen in ein neuen Zentrifugenauffangröhrchen gesteckt.

In das QIAamp-Zentrifugenröhrchen wurde 500 µl Reaktionspuffer AW (QIAamp-Kit) gefüllt und für eine Minute bei 8000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde dann verworfen. Dieser Vorgang wurde wiederholt, allerdings wurde nun bei Maximalgeschwindigkeit für drei Minuten zentrifugiert.

Nachdem der Überstand verworfen und das QIAamp-Zentrifugenröhrchen in ein steriles, zuvor mit Patientendetails beschriftetes, 1,5 ml Zentrifugenröhrchen gesteckt worden war, wurde die DNA gelöst.

Dazu wurde in das Gefäß 200 µl Buffer AE (QIAamp-Kit), der zuvor auf 70°C erhitzt worden war, gefüllt, und für eine Minute bei RT inkubiert. Nun wurde für eine Minute bei 8000 rpm zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde wieder auf 70°C erhitzt und der Vorgang wiederholt. Anschließend wurde das QIAamp-Zentrifugenröhrchen verworfen und die erhaltene DNA bis zu einer weiteren Verwendung bei -20°C aufbewahrt.

Die Bestimmung des HLA Genotyp wurde nach beschriebener Methodik (Bunce und Welsh 1994) im Oxford Transplantation Center, Transplantation Immunology, Dept.of Surgery, Churchill Hospital, Oxford, UK durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Qualitative Auswertung

3.1.1 Fotografische Präsentation

Die mit dem monoklonalen Antikörper (1) gefärbten Schnitte präsentierten mit einer ausgeprägten Immunreaktivität (IR), welche mit Anfärbung der Zellmembran, des Zytoplasmas, oder beidem übereinstimmt. Im Vergleich dazu zeigten die mit unspezifischem Maus IgG angefärbten Schnitte keine Fluoreszenz.

Eine Inkubation mit primärem Antikörper (2) von DAKO, anstelle des primären Antikörpers (1) von NOVA-CASTRA, erbrachte eine Färbung gleicher Strukturen.

In der Epidermis der Normalhaut ist eine starke, charakteristische perizelluläre IR zu beobachten. Sie hat eine wabenartiges Aussehen und erstreckt sich über alle Schichten der Epidermis. Das Zytosol zeigt dabei keine Anfärbung.

Auch die Schnitte der gesunden Hautareale der Psoriasispatienten präsentierten dieses Färbeverhalten.

Im Gegensatz zur gesunden Haut zeigen die Proben der befallenen Hautareale eine deutlich verminderte IR. Die wabenartige Färbestruktur ist verschwunden, hingegen erkennt man nun eine schwache intrazelluläre IR. Die perizelluläre IR ist hier deutlich vermindert und entspricht der zytosolischen. HIV-seropositive Psoriasis Vulgaris (PV) Proben zeigen ein gleiches Färbeverhalten, wie die, HIV-seronegativer. Bei den Proben der Psoriasis Guttata (PG) Patienten erkennt man eine etwas uneinheitlichere IR in den einzelnen Schichten der Epidermis, als bei den PV Patienten.

Foto 1 Normale Haut

63fache Vergrößerung

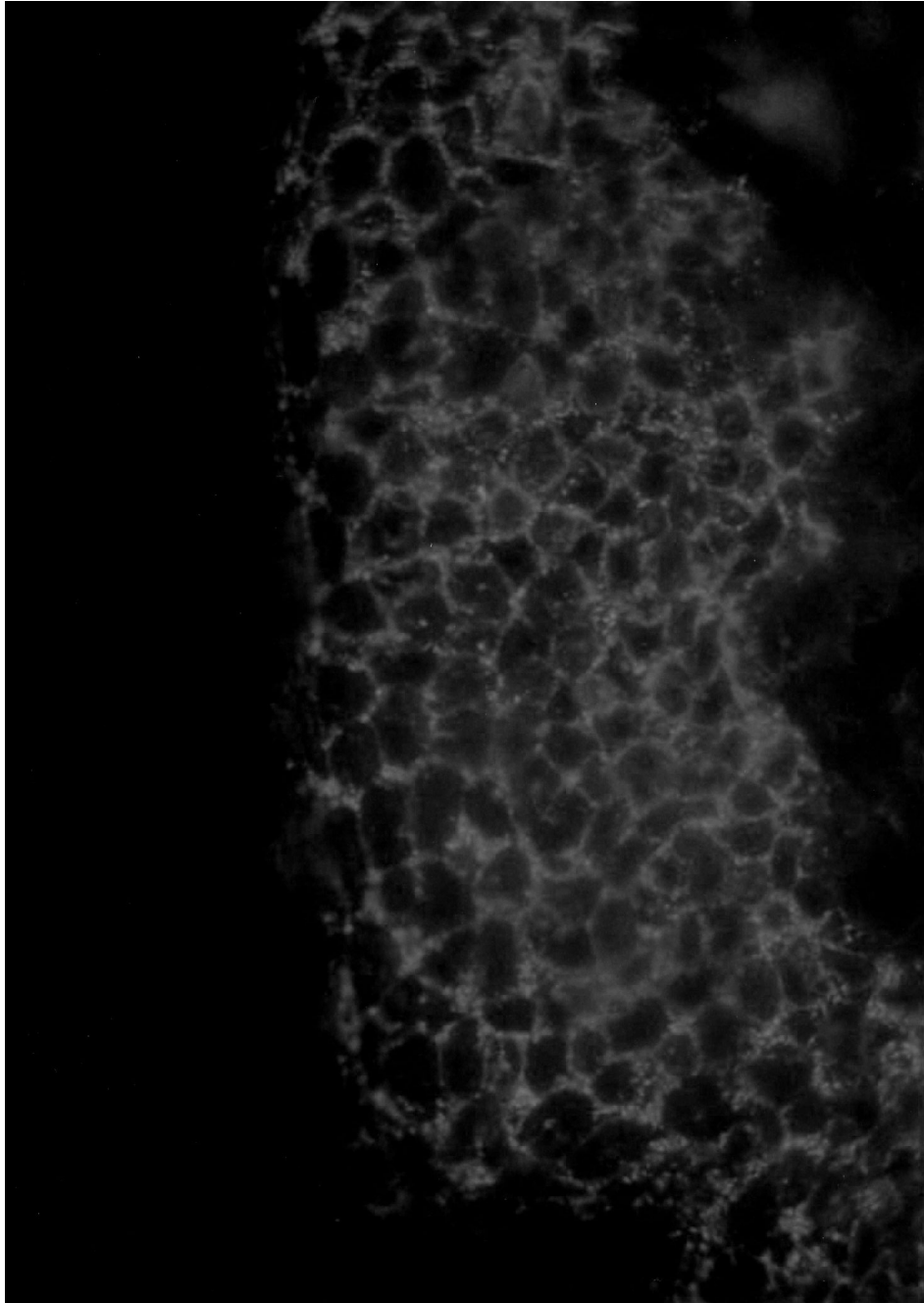


Foto 2 Psoriasis Vulgaris (HIV-), klinisch gesunde Epidermis

63fache Vergrößerung

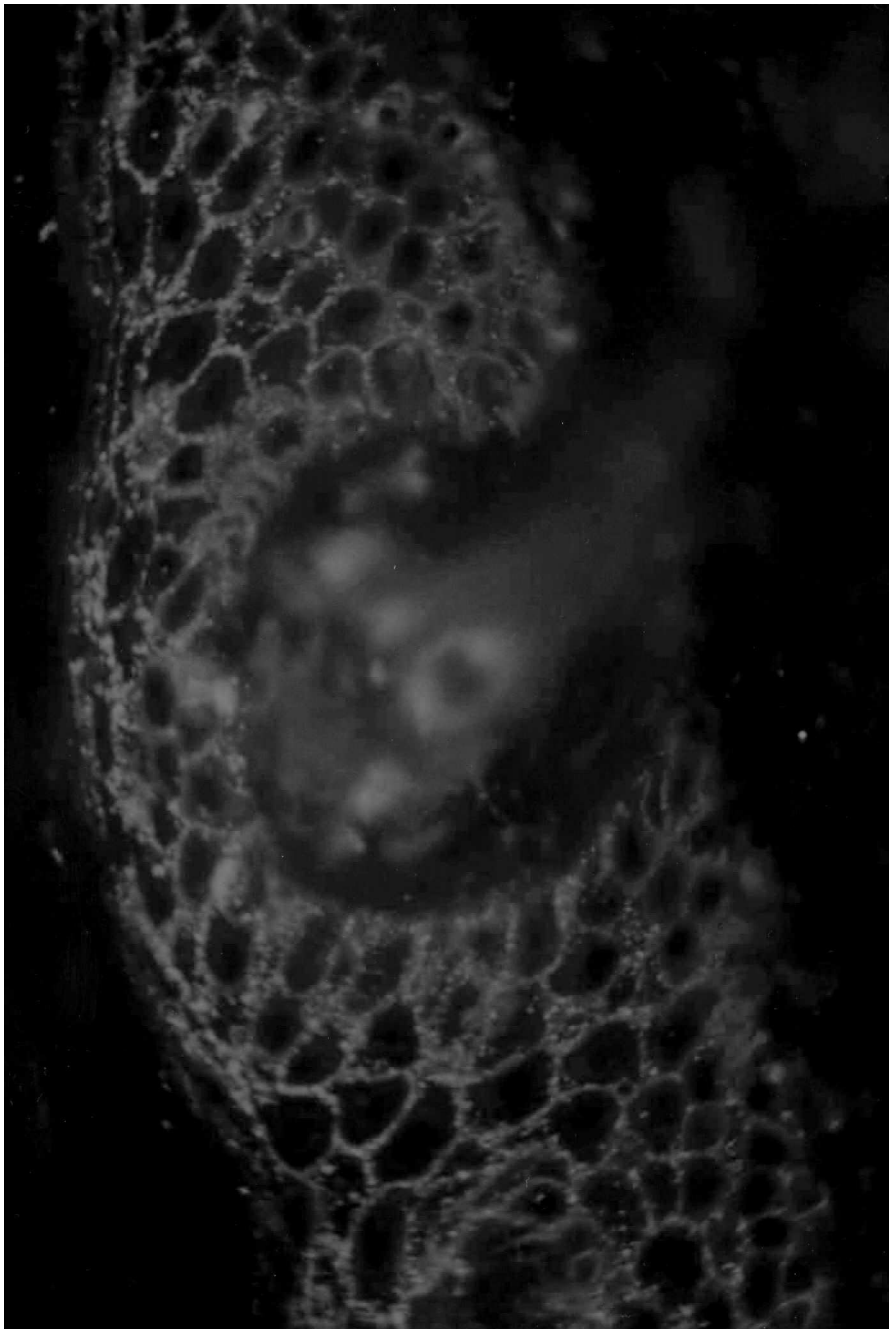


Foto 3 Psoriasis Guttata, klinisch gesunde Epidermis

63fache Vergrößerung

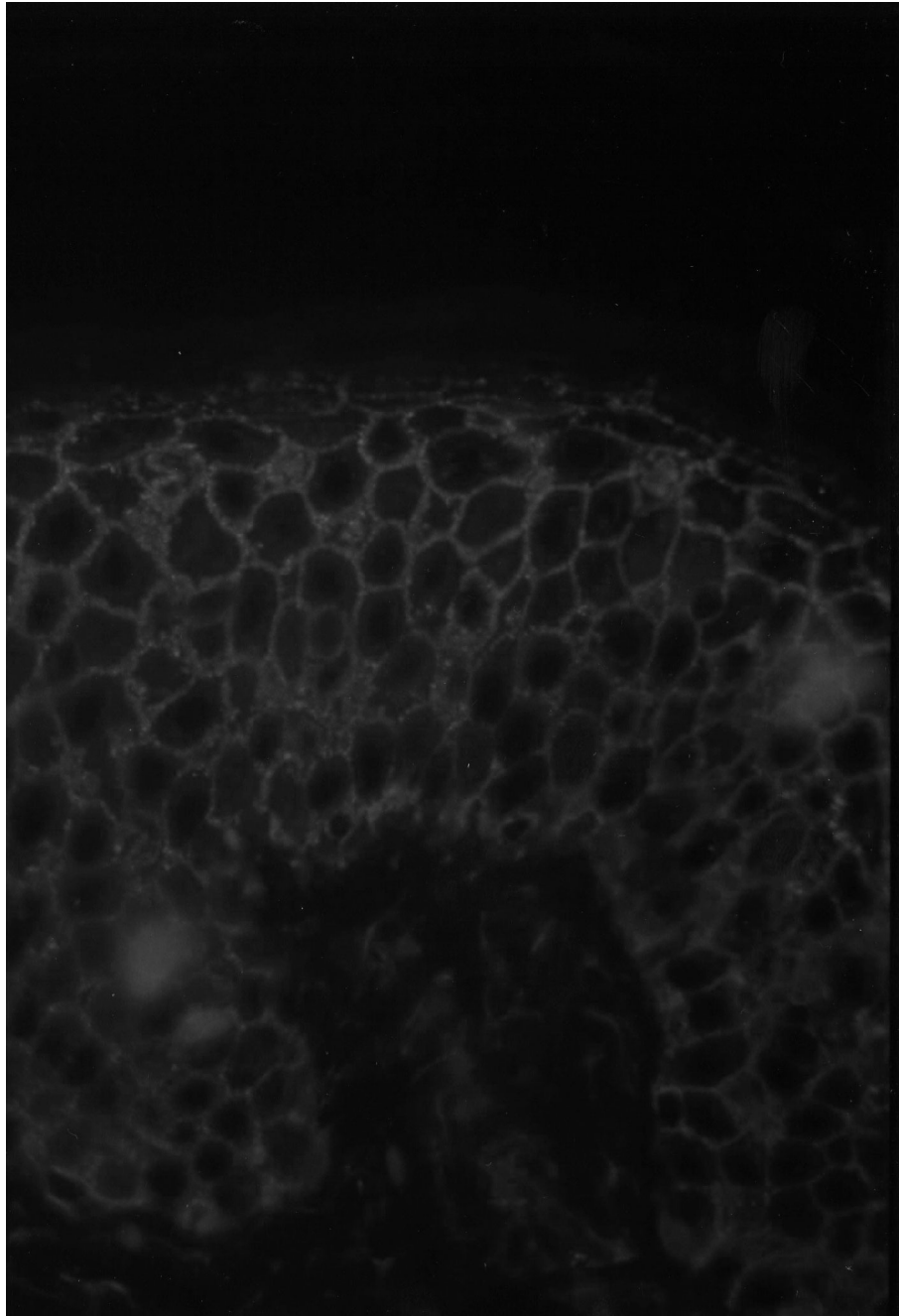


Foto 4 Psoriasis Vulgaris (HIV-), Übergang Dermis/Epidermis, klinisch befallene Haut

Übergang Dermis/Epidermis, befallene Haut
63fache Vergrößerung

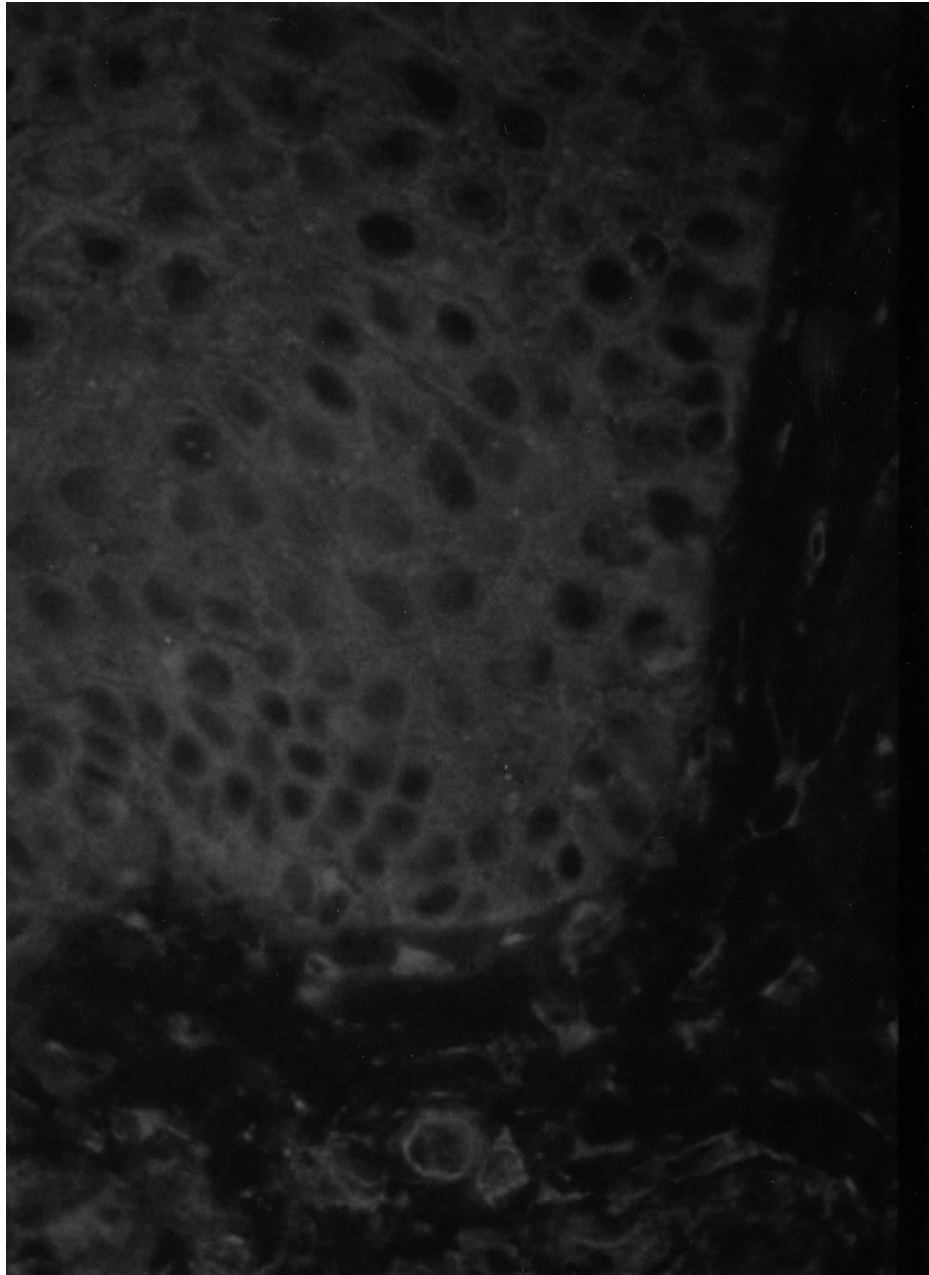


Foto 5 Psoriasis Guttata, Übergang Dermis/Epidermis, klinisch befallene Haut

Übergang Epidermis/Dermis,
befallene Haut
25fache Vergrößerung

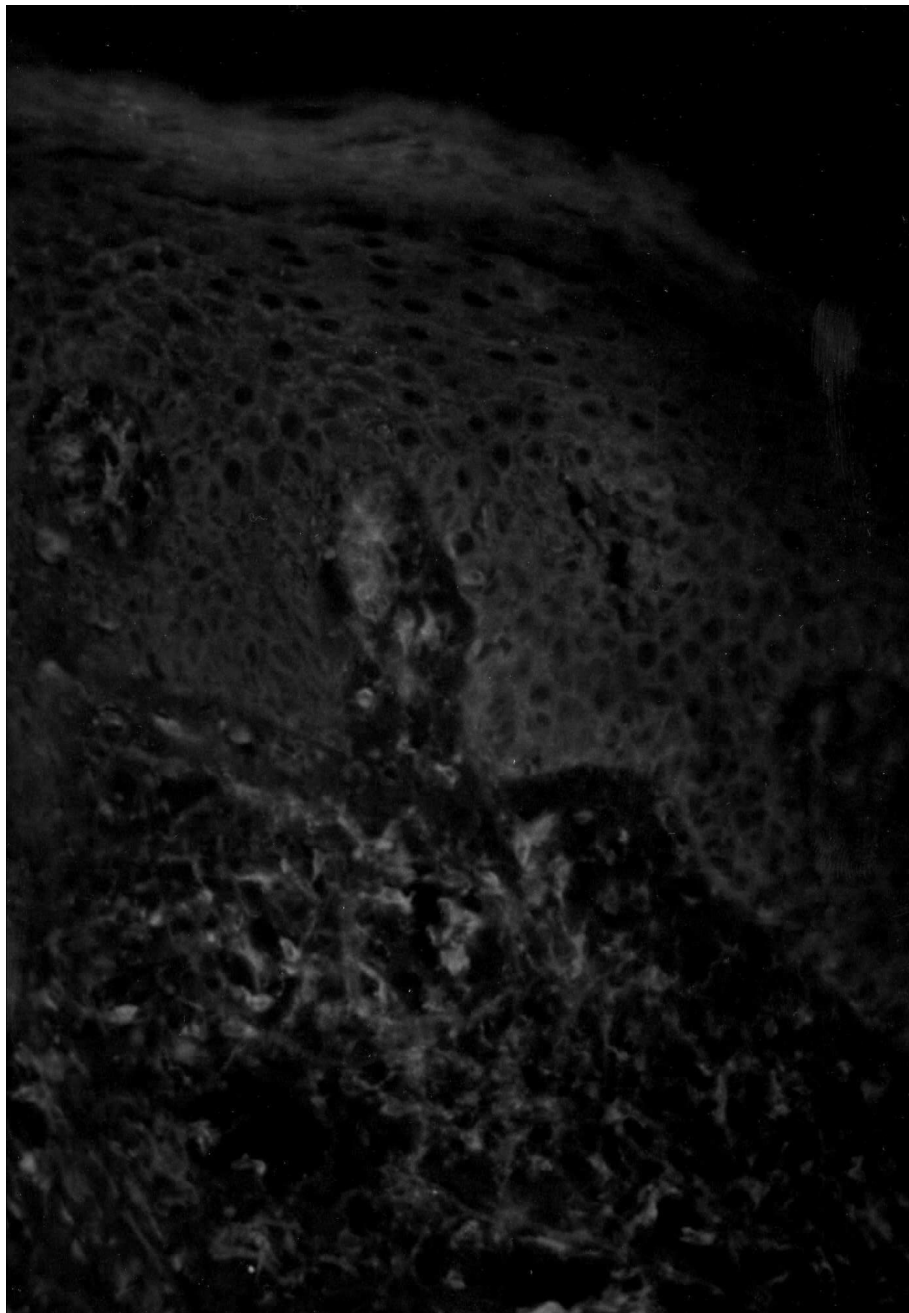
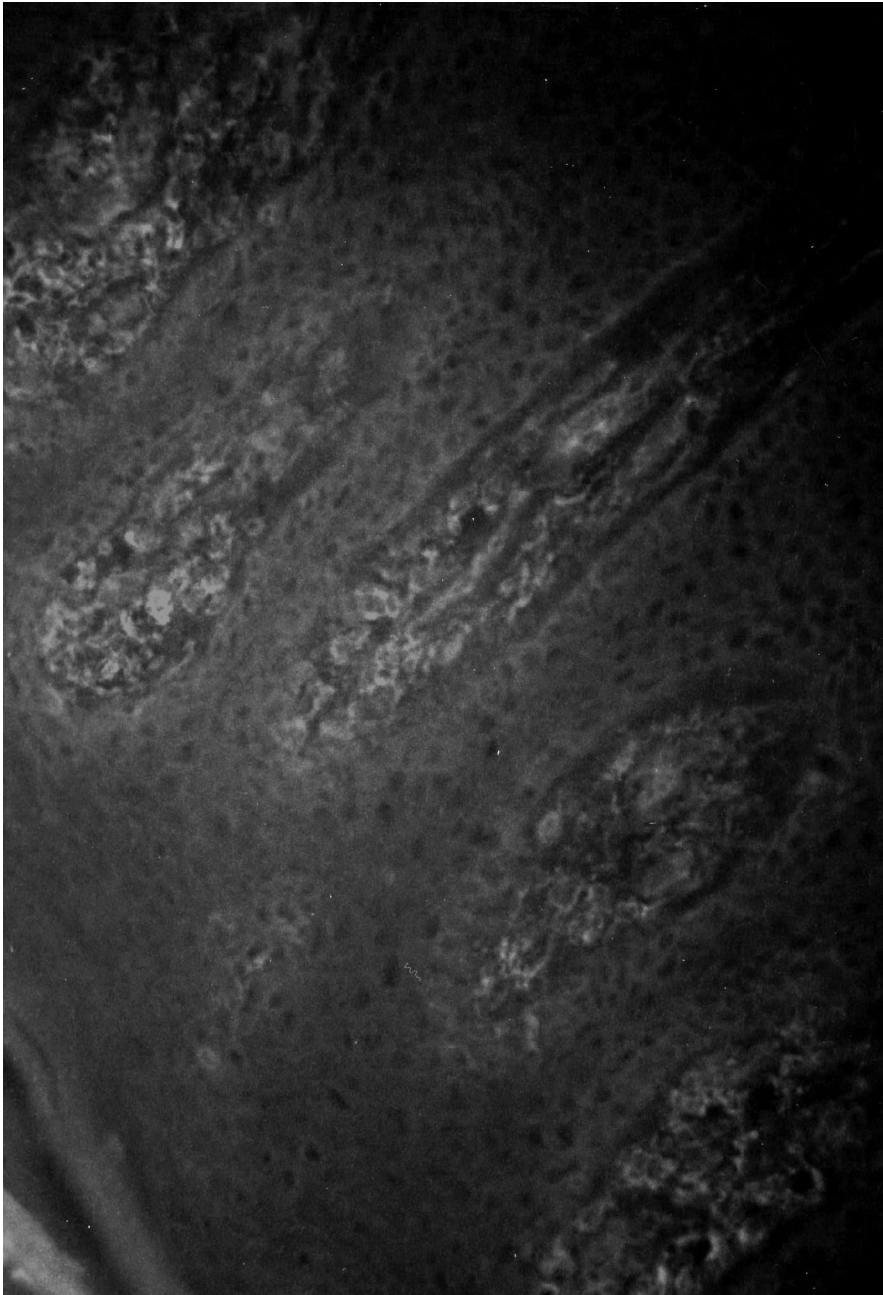


Foto 6 Psoriasis Vulgaris (HIV-), Epidermis, klinisch befallene Haut

Epidermis, klinisch erkrankte Haut
25fache Vergrößerung



3.2 Semiquantitative Analyse

Alle Hautschnitte wurden gemäß den in Kapitel 2 eingeführten Bewertungskriterien beurteilt. Die in den Tabellen dargestellten Angaben beziehen sich auf gemittelte Ergebnisse für die angegebene Biopsiegruppe Normalhaut, Psoriasis Vulgaris (HIV-/HIV+) und Psoriasis Guttata, jeweils klinisch befallene, oder gesunde Haut.

Tabelle 1 HLA Klasse I Expression in der Epidermis

<u>Epidermis:</u>	<u>HLA-A,B,C</u>			
	<u>Normalhaut</u>			
<i>stratum basale:</i>				
Zelloberfläche			+++	
Zytoplasma			-	
<i>stratum spinosum:</i>				
Zelloberfläche			+++	
Zytoplasma			-	
<i>stratum granulosum:</i>				
Zelloberfläche			+++	
Zytoplasma			-	
<i>stratum corneum</i>				
Entzündliche Infiltrate				+++
Andere Zellen				+++
	<u>Psoriasis Vulgaris</u>			
	HIV-	HIV+		
	klinisch gesund	klinisch befallen	klinisch gesund	klinisch befallen
<i>stratum basale:</i>	+++	+	+++	+
Zelloberfläche	-	+	-	+
Zytoplasma				
<i>stratum spinosum:</i>	+++	+	+++	+
Zelloberfläche	-	+	-	+
Zytoplasma				
<i>stratum granulosum:</i>	+++	+	+++	+
Zelloberfläche	-	+	-	+
Zytoplasma	-	-	-	-
<i>stratum corneum</i>				
Entzündliche Infiltrate	+++	+++		+++
Andere Zellen	+++	+++		+++
	<u>Psoriasis Guttata</u>			
	klinisch gesund		klinisch befallen	
<i>stratum basale:</i>	+++			+
Zelloberfläche	-			+
Zytoplasma				
<i>stratum spinosum:</i>	+++			+ / +++
Zelloberfläche	-			+
Zytoplasma				
<i>stratum granulosum:</i>	+++			+ / +++ / +++
Zelloberfläche	-			+
Zytoplasma	-			-
<i>stratum corneum</i>				
Entzündliche Infiltrate	+++			+++
Andere Zellen	+++			+++

3.2.1 HLA Klasse I Expression in der Epidermis

In den Schnitten der Normalhaut war, ausgehend vom stratum basale bis in das stratum granulosum, eine starke (+++), wabenartige, perizelluläre Immunreaktivität (IR) zu erkennen. Das Zytoplasma der angefärbten Zellen zeigte keine (-) Immunreaktivität. Ebenso präsentierte sich das stratum corneum mit keiner (-) IR.

Dieses Färbeverhalten konnte ebenfalls bei den klinisch gesunden Hautproben der Psoriasis Vulgaris (PV) und Psoriasis Guttata (PG) Patienten, beobachtet werden. Sporadisch vorhandene entzündliche Infiltrate in diesen Schnitten zeigten ebenfalls eine starke (+++) IR.

In der Gruppe der PV Patienten, präsentierten die HIV-ven und HIV+ven Proben mit einem gleichen Färbeverhalten.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den Biopsien aus klinisch befallener Haut eine deutlich verminderte IR. Die PV Biopsien, HIV-ve und HIV+ve, zeigten in der gesamten Epidermis eine schwache (+), homogene perizelluläre und intrazelluläre IR. Nur das stratum corneum färbte sich nicht. Sporadisch vorhandene entzündliche Infiltrate hingegen zeigten starkes (+++) Signal.

Die Biopsien aus den klinisch befallenen Hautarealen der PG Patienten zeigten ebenso eine deutlich verminderte, allerdings nicht so homogene IR. Im stratum basale präsentierten die Zelloberfläche und das Zytoplasma eine schwache (+) IR.

Während auch in anderen Schichten intrazellulär eine schwache (+) IR nachweisbar war, so nahm die perizelluläre IR von schwach (+) bis mäßig (++) [4 bzw. 5 Proben] im stratum spinosum tendenziell zur Hautoberfläche zu. Höhere Schichten zeigten schwache (+), mäßige (++) und starke (+++) IR [in je 3 Proben]. Im stratum corneum färbten sich keine Zellen.

Wie in den anderen untersuchten Gruppen, so zeigten auch die befallene PG Proben entzündliche Infiltrate eine starke (+++) IR.

Tabelle 2 HLA Klasse I Expression in der Dermis

<u>Dermis:</u>	<u>HLA-A,B,C</u>			
	<u>Normalhaut</u>			
Fibrozyten	-			
Endothelzellen	+++			
Entzündliche Infiltrate				
Hautanhanggebilde				
<i>Haarfollikel und Drüsenapparat:</i>				
Bereich des Infundibulum (Haartrichter):				
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)				
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)				
Subinfundibulärer- und Isthmusbereich:				
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)	-			
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)	-			
Drüsenapparat (Ekkrine Schweißdrüsen)	-			
Talgdrüsen	+			
Drüsenazini				
Ausführungsgänge	++			
Psoriasis Vulgaris				
	HIV-		HIV+	
	Klinisch gesund	klinisch befallen	klinisch gesund	klinisch befallen
Fibrozyten	-	-	-	-
Endothelzellen	+++	+++	+++	+++
Entzündliche Infiltrate	+++	+++	+++	+++
Hautanhanggebilde				
<i>Haarfollikel und Drüsenapparat:</i>				
Bereich des Infundibulum (Haartrichter):				
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)	-	-	-	++
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)	-	-	-	++
Subinfundibulärer- und Isthmusbereich:				
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)	-	+	-/+	+
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)	-	+	-/+	+
Drüsenapparat (Ekkrine Schweißdrüsen)	++/-	+ /+++	++	++
Talgdrüsen				++
Drüsenazini	++	++	++	++
Ausführungsgänge				++

Dermis:	HLA-A,B,C	
	Psoriasis Guttata	
	klinisch gesund	klinisch befallen
Fibrozyten	-	-
Endothelzellen	+++	+++
Entzündliche Infiltrate	+++	+++
Hautanhanggebilde		
<i>Haarfollikel und Drüsenapparat:</i>		
Bereich des Infundibulum (Haartrichter):		
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)		+ / +++
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)		+ / +++
Subinfundibulärer- und Isthmusbereich:		
Innere epitheliale Wurzelscheide (Inner root sheath)	-	-
Äußere epitheliale Wurzelscheide (Outer root sheath)	-	- / +
Drüsenapparat (Ekrine Schweißdrüsen)	- / ++	-
Talgdrüsen		+
Drüsenazini		
Ausführungsgänge	++	++

3.2.2 HLA Klasse I Expression in der Dermis

Das Färbeverhalten aller untersuchten Strukturen der Dermis war in den einzelnen Gruppen sehr ähnlich.

Alle Gruppen zeigten ein starkes (+++) Signal des Endothels, sowie keiner Anfärbung der Fibrozyten.

Zusätzlich war eine deutlich positive (+++) IR von entzündlichen Infiltraten bei den gesunden und befallenen Psoriasispatienten zu erkennen.

Von den Hautanhanggebilden färbten in allen Gruppen deutlich Ausführungsgänge dermalen Drüsen stark (++) positiv.

Ekrine Schweißdrüsen zeigten bei den HIV+ PV Proben durchgehend eine mäßige IR. In den HIV-ven Proben war darüber hinaus zu gleichen Teilen keine (-) bzw. eine schwache (+) IR zu beobachten [5 bzw. 3 Proben]. Diese Struktur zeigte in der Normalhaut keine (-) IR.

In den Biopsien der PG Patienten fanden sich außerdem Schweißdrüsen, die in der befallenen Haut schwach (+), in der klinisch gesunden Haut zu gleichen Teilen nicht (-) und mäßig (++) [4 bzw. 5 Proben], sowie in befallener Haut HIV-seropositiver PV Patienten ebenfalls mäßig (++) reagierten. Talgdrüsen in der Normalhaut zeigten eine schwache (+) IR.

Im Bereich des Haartrichters konnten nur geringfügige Unterschiede im Färbeverhalten festgestellt werden.

Die innere und äußere epitheliale Wurzelscheide im Bereich des Haartrichters zeigte in den klinisch gesunden Proben der PV Patienten sowie denen aus befallener Haut stammenden Proben bei HIV-ven, keine (-) IR. Befallene Haut HIV-seropositiver PV Patienten wies im Gegensatz dazu eine mäßige, die von PG Patienten zu gleichen Teilen eine schwache (+) bzw. starke (+++) Färbung auf.

In tiefer gelegenen Bereichen des Haarapparates variierte das Signal zwischen keiner (-) oder einer schwachen (+) IR.

4. Diskussion

Die Immunreaktivität (IR) von HLA Klasse I Antigenen in Normalhaut bestätigt Ergebnisse anderer Studien (Harrist, Ruitter et al. 1983).

Im Bereich der Epidermis war ein starkes (+++), in der gesamten Epidermis homogen verteiltes und wabenartiges Signal an der Zelloberfläche der Keratinozyten zu erkennen. In Kontrast dazu, war kein (-) intrazelluläres Signal festzustellen. Zellen des stratum corneum zeigten ebenfalls keine (-) Anfärbung.

Das IR im Bereich des stratum granulosum konnte in unseren Versuchen als stark (+++) beobachtet werden, während Harrist, Ruitter et al. (1983) von keinem (-) Signal berichteten.

Gielen, Mauduit et al. (1987), sowie Gielen, Schmitt et al. (1988) beschrieben für die gesamte Epidermis eine Anfärbung von HLA Klasse I. Eine vorhandene, allerdings gegenüber den anderen Epidermisschichten abgeschwächte IR konnten Bronstein, Murphy et al. (1983) finden.

Die Anwesenheit von HLA Klasse I Antigenen auf der Zelloberfläche von Keratinozyten war zuvor bereits intensiv untersucht worden (Ackermann-Schopf, Ackermann et al. 1974; Governa und Biguzzi 1976; Vinninghe und Neumann 1981; Murphy, Bhan et al. 1981; Saurat, Gluckman et al. 1977).

In der Epidermis von klinisch gesunder Haut bei PG und PV (HIV+ und HIV-) konnte dieselbe IR beobachtet werden, lediglich sporadisch vorhandene entzündliche Infiltrate zeigten eine starke (+++) IR. Dieses entspricht der wohl bekannten starken HLA Klasse I Expression auf lymphatischen Zellen (Daar, Fuggle et al. 1984). Bei diesen Zellen handelt es sich um T-Zellen, deren Vorhandensein in sich-entwickelnden und floriden Psoriasisläsionen seit langem bekannt ist (Griffiths und Voorhees 1996).

Biopsien klinisch befallener Haut zeigten in der Epidermis eine deutlich verminderte Expression von HLA Klasse I Antigen. Die klinisch befallenen

Proben der PV (HIV- und HIV+) zeigten eine homogene, schwache (+) intra- und perizelluläre IR.

In befallener Haut von PG Patienten zeigte sich ebenfalls eine verminderte Expression, die aber in ihrer Verteilung inhomogener war. In allen Schichten präsentierte das Zytoplasma mit einer schwachen (-) Färbung, diese war in der Basalzone auch an der Zelloberfläche nachzuweisen.

Perizellulär konnte im stratum spinosum ein schwaches bis mäßiges, in höheren Schichten sogar eine schwache (+), mäßige (++) und starke (+++) IR beobachtet werden.

Auch im Bereich der Dermis bestätigten die von uns erbrachten Ergebnisse die detaillierte Untersuchung von HLA Klasse I Antigenexpression in Normalhaut von Harrist, Ruitter et al. (1983). Lediglich in den Hautanhanggebilden ergaben sich geringfügige Unterschiede in der Expressionsintensität von HLA-I. Diese geringfügigen Variationen der IR sind am ehesten mit einer grenzwertigen Sensitivität unseres Experiments in diesem Bereich zu erklären.

4.1 Alterierte HLA-Expression in Körpergewebe

Die Expression von HLA-I im menschlichen Körper variiert stark und kann in pathologischen Situationen sehr unterschiedlich sein. So ist die HLA-I Expression in Hirn und Skelettgewebe äußerst gering, sowie in Leber und Niere weniger stark ausgeprägt als auf lymphatischen Gewebe, welches im menschlichen Körper die stärkste HLA-I Expression zeigt. Auf Zellen des *villous trophoblast*, die zu den immunprivilegierten Geweben zählen, fehlt eine HLA-I Expression vollständig (Seliger B, Dunn T et al. 1997).

Eine verminderte bzw. ganz aufgehobene MHC-I Expression an der Zelloberfläche ist für murine und humane Tumoren (s.o.) sowie bei *in vitro* Modellen von oncogenen und viralen Transformationen beschrieben worden (Maudsley und Pound 1991; Garrido F, Cabrera T et al. 1993). Dies gilt für Tumorzellen des Embryonalzellkarzinoms sowie für andere neoplastische Zellen, beispielsweise die Zelllinie des DAUDI-Tumors. In dieser Zelllinie ist die

Synthese des β_2m fehlerhaft, so daß es zu keiner Oberflächenexpression von HLA-I kommt (Roitt I 1997a). Diese verminderte Expression könnte aufgrund von strukturellen Alterationen und/oder einer Dysregulation der *heavy chain* bzw. *light chain* zustande kommen (Ferrone S und Marincola FM 1995; Ting und Baldwin 1993; D' Urso CM, Wang Z et al. 1991; Seliger B und Pfitzmair K 1989).

Ebenso kann ein Virusinfekt zu einer verminderten HLA-I Expression führen (Fleming, McMichael et al. 1981; Nataraj, Eidmann et al. 1997). Es wird postuliert, daß die viral infizierten Zellen so versuchen, sich der zytotoxischen Immunantwort zu entziehen.

Zu den Antigenen der HLA Klasse I zählen HLA-A, -B und -C. All diese Genprodukte weisen auf mRNA-Ebene gleiche Mengen auf (Bunce, Barnardo et al. 1997), allerdings variieren die Anteile der Expression an der Zelloberfläche.

HLA-C trägt, im Gegensatz zu HLA-A und -B, nur zu etwa 10% der gesamten HLA Klasse I Oberflächenrezeptorexpression bei (Gussow, Rein et al. 1987). Eine ineffiziente Kopplung an β_2m (Neefjes JJ und Ploegh 1988) oder aber ein *rapid-turnover* der HLA-C mRNA (McCutcheson JA, Gumperz J et al. 1995), könnte dem zugrunde liegen. Außerdem wäre es denkbar, daß Haplotyp-spezifische Gründe oder Defekte in den Regulationsmechanismen dafür verantwortlich sind (Cereb N, Lee S et al. 1994).

4.1.1 Störungen im Mechanismus der zellulären HLA-Rezeptor Expression

Betrachtet man die Synthese von HLA Klasse I Molekülen auf dem Weg vom Gen zur Expression, so können auf mehreren Stufen Gründe für eine verminderte Expression liegen: Einflüsse auf genetischer Ebene, prä- und posttranslatorische Synthesestörungen sowie eine Modulation des exprimierten Rezeptors sind mögliche Faktoren.

4.1.1.1 Analyse des Mechanismus der Ag-Präsentation im Zusammenhang mit HLA-I Molekülen und einer verminderten Expression von HLA-I

Eine Ag Präsentation und ein intrazelluläres *processing* in Verbindung mit HLA Klasse I und HLA Klasse II Molekülen laufen nach einem genauen Schema ab.

Klasse I Moleküle verarbeiten Peptidfragmente von Molekülen, die intrazellulär im ER oder Zytosol synthetisiert worden sind, z.B. Viruspartikel. HLA Klasse II assoziieren sich nur mit Produkten aus Endozytosevorgängen. Diese beiden unterschiedlichen HLA Klassen führen dann konsekutiv, vereinfacht dargestellt, zu zwei unterschiedlichen Immunantworten, Zytotoxizität oder Zytokinproduktion.

Wie stellt sich die intrazelluläre Ag Verarbeitung im Zusammenhang mit HLA Klasse I Molekülen genau dar?

Antigene Komponenten, z.B. eines Virus, werden endogen in einer Zelle verarbeitet. Über sog. *low mass proteins* (LMP 2, LMP 7), Komponenten eines Multikatalasekomplexes, werden antigene Peptide synthetisiert (Glynne, Powis et al. 1991; Oritz-Navarette, Seelig Gernold et al. 1991). Mit Hilfe eines Transportkomplexes TAP 1/TAP 2, *transporter associated with Ag processing*, werden diese Peptide in das endoplasmatische Retikulum transportiert (Monaco, Cho et al. 1990; Spies, Breshnahan et al. 1990; Trowsdale, Hanson et al. 1990). Diese TAP 1 und TAP 2 sind substratspezifisch und selektieren Proteine.

Ausgehend von der genetischen Codierung auf dem Chromosom 6p werden über Translation die MHC *light chain* ($\beta 2$ Mikroglobulin) und die *heavy chains* ($\alpha 1/\alpha 2/\alpha 3$) synthetisiert und ebenfalls in das ER transportiert.

Durch Inaktivität von Teilen der Promotorregion kommt es in Zellen des Trophoblasten zu einer abgeschwächten Translation und so zu verminderter bis aufgehobener HLA-I Expression (Lefebvre, Moreau et al. 1999). Durch das Onkogen c-myc in Zellen eines Melanoms soll außerdem die HLA Klasse I Expression vermindert werden.

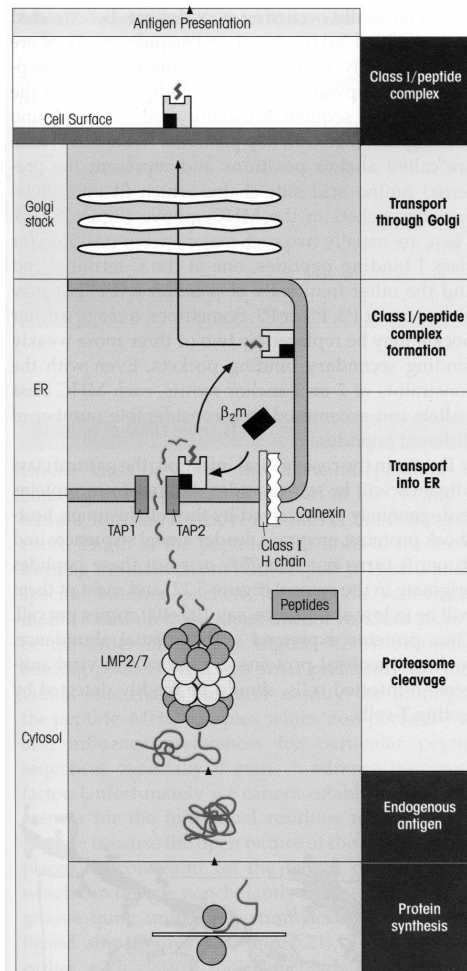


Abbildung 7 Verarbeitung und Expression von endogenem Ag von HLA-I. Verändert nach Roitt I 1997b

Mavria, Hall et al. (1998) beschrieben, daß eine verminderte *heavy chain* mRNA in Oligodendrozyten von Ratten eine verminderte HLA-I Expression zur Folge hat.

Eine erhöhte Zellteilungsrate und damit ein erhöhter Zellumsatz könnten auch eine verminderte Genexpression von HLA-I zur Folge haben.

Zusammen mit den antigenen Peptiden bildet dieses neu hergestellte MHC-I Molekül einen trimären Komplex, der notwendig ist, um einen effizienten Transport an die Zelloberfläche, eine stabile Konformation und Präsentation des antigenen Peptids für CD 8+ve T-Lymphozyten, zu gewährleisten (Townsend und Bodmer 1989;

Goldberg und Rock 1992; Yewdell und Bennink 1992).

Eine veränderte Expression von HLA Klasse I Molekülen kann ebenfalls durch Zytokine herbeigeführt werden. IL-10 ist in der Lage, eine verminderte HLA-I Expression in Melanomzellen (Yue, Dummer et al. 1997) und Tumormetastasen (Kundu und Fulton 1997) zu verursachen.

Eine verstärkte Expression von HLA Klasse I kann durch Interferon- γ (IFN- γ) und IFN- α (Beniers, Peelen et al. 1991) sowie die Interleukine 2, 4 und 6 herbeigeführt werden.

Dies ist insofern überraschend, da in Psoriasis-Haut IFN- γ und IL-2 vermehrt in Psoriasisläsionen nachweisbar sind (Bata-Csorgo, Hammerberg et al. 1995a).

Seliger B, Dunn T et al. (1997) zeigen, daß herabgesetzte HLA-I Expression in Krebszellen auf eine verminderte Expression vom TAP und LMP, sowie MHC-I Transkripte zurückzuführen ist. Keine Defekte lagen auf dem posttranslationalen Level. Eine posttranskriptionale MHC *downregulation* kann durch IFN- γ aufgehoben werden (Yang, Waters et al. 1992; Seliger, Hammers et al. 1997).

In der Untersuchung von Seliger wurde beschrieben, daß die oben genannten Transporterdefekte zu einer Akkumulation von MHC-I *light-chain* und *heavy-chain* Komplexen im ER führen, da ein Transport zur Zelloberfläche verhindert wird.

Neben diesen Veränderungen kann auch die räumliche Konformation des HLA-I Moleküls durch eine abweichende Aminosäurefrequenz verändert sein.

Eine Assoziation von Psoriasis mit einer bestimmten Nukleotidsequenz (Ala-73) wurde für japanische (Asahina, Akazaki et al. 1991), finnische (Ikäheimo 1994) und jüdische (Roitberg-Tambur, Friedmann et al. 1994) Patienten beschrieben. Die Bedeutung von Ala-73 als Prädispositionsfaktor für Psoriasis (engl. *susceptibility factor*) wurde von Mallon, Bunce et al. (1997) bestätigt.

Codon 73, das für Ala-73 anstatt Thr-73 codiert, ist ein wichtiger Bestandteil des HLA-C Gens. Es kommt in den Allelen Cw*04, Cw*0602, Cw*07, Cw*1503 und Cw*17 vor (Mallon, Bunce et al. 1997).

Ala-73 hat eine besondere Bedeutung als HLA-C Genprodukt. Diese Aminosäure ist an der $\alpha 1$ Domäne des HLA-C Moleküls lokalisiert, welche einen Teil der Bindungstasche für ein bestimmtes Ag bildet (Bjorkman, Saper et al. 1987). Veränderungen in der Aminosäurekomposition dieser Tasche würden zu räumlichen- und/oder Polaritätsverschiebungen führen. Diese Veränderungen könnten zu einer unterschiedlichen Fähigkeit des HLA Moleküls zur Ag-Bindung und Präsentation führen.

An dieser Stelle könnte ein potentiell Ag binden und eine Reaktionskaskade in Gang setzen, welche letztlich in Psoriasis endet.

Neben Ala-73 wurde außerdem auch Ala-9 mit Psoriasis in Verbindung gebracht (Asahina, Kuwata et al. 1996), welches sich ebenfalls auf die Konformation der C-Tasche auswirkt.

Nach den vorgestellten Modellen könnte eine verminderte Expression von HLA Klasse I Ag in Psoriasis durch eine virale Infektion, alterierte Genexpression, einen gestörten Synthesemechanismus, Zytokinbeeinflussung und/oder eine gestörte Oberflächenpräsentation bedingt sein.

Die von uns beobachtete verstärkte intrazelluläre IR könnte durch eine Akkumulation der HLA-I Moleküle im Zellinnern erklärt werden. Grund dafür ist möglicherweise eine Dysregulation von Synthese und Transport dieser Moleküle.

4.2 Erklärungsmodelle des Pathomechanismus von Psoriasis

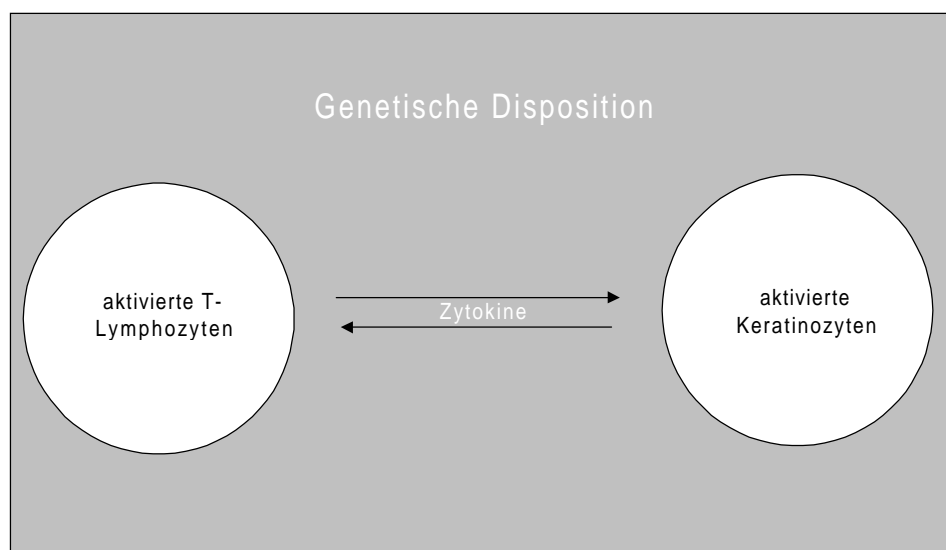


Abbildung 8 Die Hauptkomponenten im Pathomechanismus von Psoriasis

Wie in Abb. 8 schematisch dargestellt, spielen vier Komponenten im Pathomechanismus die entscheidende Rolle: genetische Disposition, Zytokine, T-Lymphozyten und Keratinozyten. Jede war und ist, mit unterschiedlichen Schwerpunkten, Gegenstand der Forschung.

In diese drei genannten Kategorien lassen sich auch die aktuellen Theorien zu der Entstehung von Psoriasis einordnen. Diese werden im Folgenden näher erläutert, um die Einordnung meiner Ergebnisse vornehmen zu können.

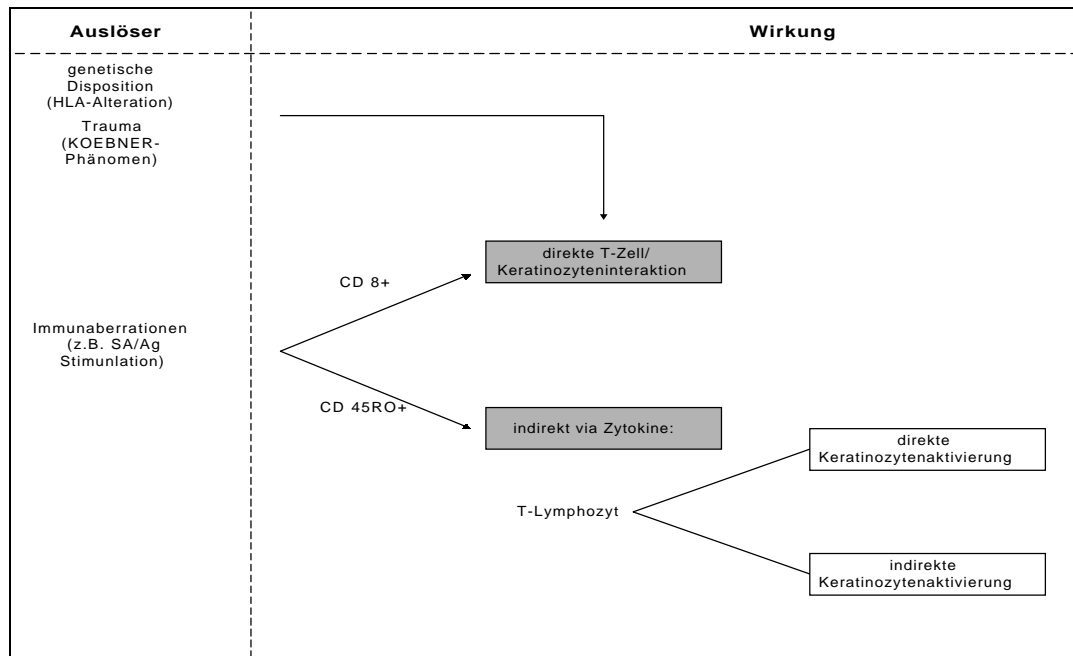


Abbildung 9 Pathomechanismus von Psoriasis

Keratinozyten

Der ersten Hypothese folgend, wird Psoriasis direkt durch physische, chemische oder ultraviolette Schädigung der Haut, welche dann zu einer direkten Aktivierung epidermaler Keratinozyten führt (KOEbNER-Phänomen), verursacht. Die aktivierten Keratinozyten produzieren Zytokine und setzen diese frei. Letztere führen dann zu einer Aktivierung von T-Lymphozyten führen (Chang, Hammerberg et al. 1992). Diese Aktivierung von Immunozyten, welche ‚Antigen unabhängig‘ erfolgt, hat wiederum zur Folge, daß mehr Zytokine produziert und freigesetzt werden. Das Ergebnis dieser Kaskade ist eine Hyperkeratose sowie eine Entzündungsreaktion in der Haut, die beiden Hauptmerkmale von Psoriasis.

Aberrationen des Immunsystems

Aberrationen des Immunsystems als primäres Geschehen mit einer konsekutiven Aktivierung von Keratinozyten und deren Proliferation sind gemeinsames Kennzeichen der folgenden Theorien zum Pathomechanismus von Psoriasis und Gegenstand der aktuellen Forschung.

Wie in der Einleitung ausführlich erörtert, spielen T-Lymphozyten dabei die zentrale Rolle. Kontrovers wird diskutiert, welcher Subtyp der T-Lymphozyten, CD 4+ *helper*, oder CD 8+ *killer* T-Zellen, entscheidend beteiligt sind, wie und wodurch die Aktivierung des Immunsystems ausgelöst wird und wie im einzelnen die typischen, psoriatischen Hautveränderungen entstehen.

Untersuchungen von Baker, Swain et al. (1984a) ergaben, daß die Entstehung eines Psoriasisplaques mit einem dermalen Influx von CD 4+ven T-Zellen einhergeht. Demgegenüber ist die Resolution dieser Läsionen durch Reduktion der CD 4+ven und einem Einstrom von CD 8+ven T-Lymphozyten gekennzeichnet. Schön, Detmar et al. (1997) gelang es, eine dermale Effloreszenz, welche in der klinischen Präsentation dem histopathologischen Bild und dem Zytokinprofil von Psoriasis entsprach, durch Injektion von *naive* CD 4+ven T-Zellen (HLA-match in den Haupt- und HLA-mismatch in den Neben-MHC-Antigenen) in einer SCID-Maus (*severe combined immunodeficient*) hervorzurufen. Einen weiteren Anhalt für eine primäre Rolle der CD 4+ T-Zellen bieten Berichte, nachdem die systemische Administration von chimären monoklonalen Antikörpern (MCA) gegen CD 4+ve Zellen eine klinische Verbesserung der Läsionen hervorruft (Prinz, Braun-Falco et al. 1991).

Für eine primäre Beteiligung von CD 8+ven Zellen spricht hingegen nach Gottlieb, Gilleaudeau et al. (1995), daß CD 8+ve Zellen intraepitheliale Mediatoren von Psoriasis sind und eine erfolgreiche Therapie von Psoriasis mit einer Verringerung der CD 8+ven infiltrierenden Zellen einhergeht. Außerdem zeigen Studien der Expression des T-Zellrezeptors (TCR) in Psoriasis-Haut eine oligoklonale Verwendung der V β Kette, vor allem expremiert von der

Zellpopulation der CD 8+ven Zellen (Chang, Hammerberg et al. 1992). Diese Tatsache führte zu der These, CD 8+ve Zellen seien die Effektorzellen für Psoriasis.

Nicht zuletzt die Tatsache, daß Psoriasis mit einem Gen assoziiert wird (Trembath, Clough et al. 1997; Mallon, Bunce et al. 1997 und 1998; Mallon, Young et al. 1998), welches in dem *linkage disequilibrium* der HLA-Klasse I Gene liegt, weist auf eine besondere Rolle der CD 8+ven T-Lymphozyten hin.

Anfang der Neunziger berichteten Zhou und Chaplin (1993) von einem sogenannten 'S'-Gen, welches ebenfalls in der Genregion von HLA Klasse I entdeckt wurde. Dieses Gen ist nur in terminal differenzierten Keratinozyten exprimiert und könnte an dem Pathomechanismus von Psoriasis beteiligt sein.

Mechanismen T-lymphozytär vermittelter Pathogenität

Es wird postuliert, daß T-Lymphozyten auf direktem und/oder indirektem Wege Psoriasis auszulösen vermögen.

Zum einen binden sich T-Lymphozyten in Psoriasis über LFA-1 und ICAM-1 direkt an Keratinozyten (Stoof, Mitra et al. 1992) und können so parakrin interagieren. Die Folge ist eine Schädigung der Keratinozyten, welche im Sinne einer Wundheilungsreaktion reagieren, d.h. sie werden aktiviert und proliferieren. Diese autoreaktiven CD 8+ven Zellen zeigen darüber hinaus eine Kreuzreaktivität mit den Synovialzellen der Gelenke, deren Schädigung dann zu der sog. Psoriasis-Arthritis führt. Die Tatsache, daß eine krankheitsspezifische Überexpression einiger variabler Abschnitte des Gensegments V β 3 und V β 13.1 in CD 8+ven Leukozyten von Psoriasispatienten identifiziert wurde, welche aus persistierenden Läsionen isoliert worden waren, spricht für eine Bedeutung dieser Zellen für den Pathomechanismus (Chang, Smith et al. 1994).

Über diesen Mechanismus könnten fehlgesteuerte, autoreaktive CD 8+ve, *zytotoxische* T-Lymphozyten Psoriasis initiieren.

CD 4+ve Lymphozyten könnten Psoriasis durch die Produktion und Sezernierung von Zytokinen (s. Einleitung) und so einem sekundären Keratinozytenwachstum herbeiführen.

Die Assoziation von vor allem Psoriasis Guttata mit Streptokokkeninfekten, führten zu der These eines antigenstimulierten Pathomechanismus in Psoriasis. Durch Streptokokken-Superantigen (s.u.) stimulierte T-Zellen exprimieren selektiv den CLA-1 Rezeptor (Leung, Gately et al. 1995). Über diesen Mechanismus kann möglicherweise eine systemische Streptokokkeninfektion in die Haut lokalisiert werden. T-Zelllinien, isoliert aus Psoriasisplaques und *in vitro* gewachsen, proliferieren nach einer Stimulation mit dem Streptokokken-M 6 Protein (Valdimarsson, Baker et al. 1995). Dieses Protein ermöglicht es Streptokokken, als Superantigen (SA) zu reagieren. Das Strep-M 6 Protein und das Keratin 14, ein hyperproliferatives Keratin, zeigen darüber hinaus eine Sequenzhomologie (Barker 1998).

Diese These wird außerdem durch die Tatsache unterstützt, daß man eine klonale V β -Kettenrestriktion bei einer Ag-stimulierten T-Zellexpansion findet. In Psoriasisishaut wurde eine oligoklonale Restriktion der V β -Kette des TCR bei T-Zellen aus diesen Läsionen beschrieben (Lewis, Baker et al. 1993; Leung, Walsh et al. 1993).

Eine solche klonale V β -Kettenrestriktion findet man bei einer antigenstimulierten T-Zellexpansion. Superantigene³, z.B. auch Streptokokkenexotoxin, können von antigenpräsentierenden Zellen (APCs) ohne vorheriges intrazelluläres *processing* oder Präsentation über die Peptidbindungsstelle T-Zellen präsentiert werden (Drake und Kotzin 1992) und mit denen einer V β -Familie reagieren.

Gegen dieses Konzept spricht allerdings, daß andere Untersuchungen von (Vekony, Holder et al. 1996) eine V β -Restriktion in Psoriasis nicht bestätigen konnten. Außerdem sprechen epidemiologische Daten gegen diese These, da

³ Als Superantigen bezeichnet man ein Antigen, das mit allen T-Zellen einer bestimmten Familie mit einer gleichen TCR-V Region reagiert Roitt I 1997a.

Psoriasis Vulgaris in der Regel nicht mit einem Streptokokkeninfekt assoziiert ist.

Neuere Untersuchungen zielen darauf ab, ein mögliches Antigen als Auslöser zu identifizieren.

Nach Nickoloff und Wrone-Smith (1998) gibt es zwei Schritte in einem autoimmunen Prozeß, basierend auf einem SCID-Maus Modell, die zu Psoriasis führen.

In einem ersten Schritt werden V β -restricted CD 4+ T-Zellen polyklonal von einem Antigen aktiviert (Boehncke, Sterry et al. 1994; Wrone-Smith und Nickoloff 1996). Werden diese aktivierten T-Zellen intradermal injiziert, so führen sie zu histologischen Veränderungen, die denen von Psoriasis gleichen (Nickoloff und Wrone-Smith 1998).

In einem zweiten Schritt reagiert dann ein autoreaktiver Subtyp von SA-preaktivierten T-Zellen mit einem potentiellen Antigen in der Epidermis (Nickoloff und Wrone-Smith 1998). Für diese These spricht nach Gilhar, David et al. (1997), daß nur T-Zellen aus psoriatischen Hautläsionen, nicht aber Lymphozyten aus der Blutbahn, für den Erhalt einer Psoriasisläsion im SCID-Modell, verantwortlich sind.

Ein solches potentielles Antigen könnte nach Favre, Orth et al. (1998) das L-1 Kapsidprotein des Humanen Papillomavirus (HPV) 5 sein. Noch sind dies aber Spekulationen und ein Beweis für die antigenabhängige Theorie konnte noch nicht erbracht werden.

4.2.1 Einordnung der Ergebnisse in den Pathomechanismus von Psoriasis

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen eine veränderte Expression von HLA Klasse I Antigen in befallener Psoriasis-Haut.

Damit bestätigt diese Untersuchung die Vermutung, eine genetische Alteration im Bereich des HLA-C Genlokus könnte eine Rolle in dem Pathomechanismus von Psoriasis spielen.

Aufgrund der immunologischen Bedeutung dieser Moleküle für die Antigenerkennung im Zusammenhang mit CD 8+ven T-Lymphozyten, stützen unsere Ergebnisse damit eine postulierte zentrale Rolle der CD 8+ven T-Zellen im Pathomechanismus von Psoriasis.

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um diese Zusammenhänge weiter aufzuklären.

Methodisch begrenzt werden diese durch die eingeschränkte Verfügbarkeit spezifischer MCA gegen HLA-C. Die Verwendung humaner Alloantisera könnte eine Möglichkeit darstellen. Eine von uns durchgeführte *in situ* Hybridisierung könnte außerdem wertvolle Erkenntnisse bringen. Aufgrund einer möglichen zu geringen Sensitivität der verwendeten Oligonukleotide blieb diese jedoch bislang ohne Aussage.

Unveröffentlichte Untersuchungen unseres Labors von β_2m Expression in derselben Patientengruppe bestätigten unsere Ergebnisse.

In Anbetracht der Bedeutung der HLA-Klasse I Ag für den Pathomechanismus von Psoriasis sind Untersuchungen in diesem Gebiet jedoch vielversprechend, weiter Licht in den Pathomechanismus dieser Erkrankung zu bringen.

5. Zusammenfassung

Psoriasis ist eine chronisch entzündliche Hauterkrankung, deren Pathomechanismus nicht vollständig aufgeklärt ist. Genetische Faktoren und eine dysregulierte Immunantwort des Körpers scheinen allerdings eine zentrale Rolle zu spielen. Eine Verbindung dieser beiden Faktoren könnte in der genetischen Disposition für bestimmte HLA Antigene bestehen, die für die Initiation und Regulation des Immunsystems verantwortlich sind. HLA Klasse I Antigene scheinen dabei von besonderer Bedeutung zu sein. Das HLA-C Allel Cw*0602 tragen 100 % der Patienten mit Psoriasis Guttata und 54 % mit Psoriasis Vulgaris (Typ I), im Gegensatz zu 24 % der Normalbevölkerung. Damit ist Cw*0602 die prägnanteste genetische Assoziation von Psoriasis. Über die Expression der HLA Klasse I Antigene in Psoriasis ist allerdings nichts bekannt.

Die Expression der HLA Klasse I Antigene in der Haut wurde mittels Immunfluoreszenz bestimmt. Dies geschah anhand von 51 Hautbiopsien. 13 Patienten mit Psoriasis Vulgaris, von denen 5 HIV-seropositiv waren, und 9 Patienten mit Psoriasis Guttata wurden zwei Stanzbiopsien entnommen. Eine stammte aus einem klinisch befallenen und eine aus einem gesunden Hautareal. Diese Proben wurden mit 7 Biopsien gesunder Freiwilliger ohne Dermatosen verglichen. Das verwandte Gewebe wurde schockgefroren, geschnitten, die entsprechenden Strukturen mit Antikörper markiert und mittels einer indirekten Immunfluoreszenzmethode gefärbt. Ein qualitatives fotografisches sowie ein semiquantitatives Analyseverfahren zur Erhebung der Daten wurde durchgeführt.

Klinisch befallene Haut von Psoriasispatienten zeigte eine deutlich verminderte Expression von HLA Klasse I Antigen in der Epidermis. Geringfügige Unterschiede im Färbeverhalten von Psoriasis Vulgaris und Psoriasis Guttata konnten hierbei festgestellt werden. Gesunde Hautschnitte beider Subtypen präsentierten eine gleiche Immunreaktivität wie die Kontrollgruppe. Im

Färbeverhalten von HIV-seropositiven und HIV-seronegativen Proben konnte kein Unterschied festgestellt werden. In der Dermis zeigten alle Gruppen eine ähnliche Immunreaktivität. Lediglich in den Hautanhanggebilden konnten geringfügige Unterschiede festgestellt werden.

Die mittels Immunfluoreszenz untersuchten Hautproben der Psoriasispatienten zeigten somit Alterationen in der HLA Klasse I Antigenexpression. Die Bedeutung dieser Moleküle für eine T-zellgesteuerte Immunreaktion bei Psoriasispatienten legen damit den Schluß nahe, daß diese Veränderungen pathophysiologische Bedeutung besitzen.

Es kann angenommen werden, daß eine dysregulierte Synthese und Expression des HLA Klasse I Antigens bei Keratinozyten in der Pathogenese von Psoriasis eine Rolle spielen könnte.

6. Literaturverzeichnis

- Ackermann-Schopf, C, Ackermann, R, Terasaki, PI und Levy, J (1974) Natural and acquired epidermal autoantibodies in man. *J.Immunol.* 112:2063-2067
- Ananthakrishnan, R, Eckes, L, und Walter H (1974) On the genetics of psoriasis: an analysis of Lomholts data from Faroe Islands for a multifactorial mode of inheritance. *J Genet* 61:142-150
- Asahina, A, Akazaki, S, Nakagawa, H, Kuwata, S, Tokunaga, K, Ishibashi, Y und Juji, T (1991) Specific nucleotide sequence of HLA-C is strongly associated with psoriasis vulgaris [published erratum appears in *J Invest Dermatol* 1991 Nov;97(5):762]. *J Invest.Dermatol.* 97:254-258
- Asahina, A, Kuwata, S, Tokunaga, K, Juji, T und Nakagawa, H (11-1996) Study of aspartate at residue 9 of HLA-C molecules in Japanese patients with psoriasis vulgaris. *J.Dermatol.Sci.* 13:125-133
- Baker, BS, Bokth, S, Garioch, JJ, Powles, AV, Lewis, H, Valdimarsson, H und Fry, L (1994) Decreased T cell reactivity to trypsinized group A, type M22 streptococci in psoriasis. *Acta Derm.Venereol.* 74:276-278
- Baker, BS, Bokth, S, Powles, A, Garioch, JJ, Lewis, H, Valdimarsson, H und Fry, L (1993) Group A streptococcal antigen-specific T lymphocytes in guttate psoriatic lesions. *Br J Dermatol* 128:493-499
- Baker, BS, Brent, L, Valdimarsson, H, Powles, AV, al-Imara, L, Walker, M und Fry, L (1992) Is epidermal cell proliferation in psoriatic skin grafts on nude mice driven by T-cell derived cytokines? *Br J Dermatol* 126:105-110
- Baker, BS und Fry, L (1992) The immunology of psoriasis. *Br J Dermatol* 126:1-9
- Baker, BS, Swain, AF, Fry, L und Valdimarsson, H (1984) Epidermal T lymphocytes and HLA-DR expression in psoriasis. *Br J Dermatol* 110:555-564
- Baker, BS, Swain, AF, Valdimarsson, H und Fry, L (1984) T-cell subpopulations in the blood and skin of patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 110:37-44
- Baker, H (1986) Psoriasis. In: Rook, AH (Hrsg) *Textbook of Dermatology.* London
- Bandrup, F und Holm, N. (1982) Psoriasis in monozygoten Zwillingen: Variationen in der Expression bei Individuen mit identischer genetischer Konstitution. *Acta Dermat* 62:229-236

- Barbatis, C, Kelly, P, Greveson, J, Heryet, A und McGee, JO (1987)
Immunocytochemical analysis of HLA class II (DR) antigens in liver
disease in man. *J Clin.Pathol.* 40:879-884
- Barker, JN (1991) Keratinocyte as initiators of inflammation. *Lancet* 337-211
- Barker, JN (1998) Psoriasis as a T cell-mediated autoimmune disease. *Hospital
Medicine* 59:530-533
- Barker, JN, Karabin, GD, Stoof, TJ, Sarma, VJ, Dixit, VM und Nickoloff, BJ
(1991) Detection of interferon-gamma mRNA in psoriatic epidermis by
polymerase chain reaction. *J Dermatol Sci.* 2:106-111
- Barker, JN, Sarma, V, Mitra, RS, Dixit, VM und Nickoloff, BJ (1990) Marked
synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon- gamma in
regulation of keratinocyte-derived adhesion molecules and chemotactic
factors. *J Clin.Invest.* 85:605-608
- Barnstable, CJ, Bodmer, WF, Brown, G, Galfre, G, Milstein, C, Williams, AF und
Ziegler, A (1978) Production of monoclonal antibodies to group A
erythrocytes, HLA and other human cell surface antigens-new tools for
genetic analysis. *Cell* 14:9-20
- Bata-Csorgo, Z, Hammerberg, C, Voorhees, JJ und Cooper, KD (1995)
Intralesional T-lymphocyte activation as a mediator of psoriatic epidermal
hyperplasia. *J.Invest.Dermatol.* 105:89S-94S
- Bata-Csorgo, Z, Hammerberg, C, Voorhees, JJ und Cooper, KD (1995) Kinetics
and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short- term
primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional
T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not
normal, stem keratinocytes. *J Clin.Invest.* 95:317-327
- Beckman, C (1977) *Acta Derm Venerol, Stockholm* 57:107-109
- Beniers, AJ, Peelen, WP, Debruyne, FM und Schalken, JA (1991) HLA-class-I and
-class-II expression on renal tumor xenografts and the relation to sensitivity
for alpha-IFN, gamma-IFN and TNF. *Int.J Cancer* 48:709-716
- Bjerke, JR, Krogh, HK und Matre, R (1978) Characterization of mononuclear cell
infiltrates in psoriatic lesions. *J Invest.Dermatol* 71:340-343
- Bjorkman, PJ, Saper, MA, Samraoui, B, Bennett, WS, Strominger, JL und Wiley,
DC (1987) The foreign antigen binding site and T cell recognition regions
of class I histocompatibility antigens. *Nature* 329:512-518
- Boehncke, WH, Sterry, W, Hainzl, A, Scheffold, W und Kaufmann, R (1994)
Psoriasiform architecture of murine epidermis overlying human psoriatic
dermis transplanted onto SCID mice. *Arch.Dermatol.Res.* 286:325-330

- Bos, JD, Hulsebosch, HJ, Krieg, SR, Bakker, PM und Cormane, RH (1983) Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch.Dermatol Res.* 275:181-189
- Brain, SD, Camp, RD, Cunningham, FM, Dowd, PM, Greaves, MW und Black, AK (1984) Leukotriene B4-like material in scale of psoriatic skin lesions. *Br J Pharmacol.* 83:313-317
- Brenner, W, Gschnait, F und Mayr, WR (1978) HLA B13, B17, B37 and Cw6 in psoriasis vulgaris: association with the age of onset. *Arch.Dermatol Res.* 262:337-339
- Bronstein, BR, Murphy, GF, Harrist, TJ, Ruiter, DJ, Mihm, MCJ und Bhan, AK (1983) Location of HLA-A,B,C antigens in dendritic cells of normal human skin: an immunoelectron microscopic study. *J Invest.Dermatol* 80:481-484
- Bucher O und Wartenberg H (1992) Haut und Anhangsgebilde. In: Bucher O (Hrsg) *Cytologie Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* Bern
- Bunce, M, Barnardo, MC, Procter, J, Marsh, SG, Vilches, C und Welsh, KI (1997) High resolution HLA-C typing by PCR-SSP: identification of allelic frequencies and linkage disequilibria in 604 unrelated random UK Caucasoids and a comparison with serology [corrected and republished article originally printed in *Tissue Antigens* 1996 Dec;48(6):680-91]. *Tissue Antigens.* 50:100-111
- Bunce, M und Welsh, KI (1994) Rapid DNA typing for HLA-C using sequence-specific primers (PCR-SSP): identification of serological and non-serologically defined HLA-C alleles including several new alleles. *Tissue Antigens.* 43:7-17
- Cereb N, Lee S, Maye P, Kong Y und Yang SY (1994) Non-random allelic variation in teh regulatory complex of HLA class I genes. *Hum.Immunol.* 41:46-51
- Chalmers, RJ, Ead, RD, Whale, K und Ive, FA (1983) Guttate psoriasis, glomerulonephritis and streptococcal infection [letter]. *Arch.Dermatol* 119:956
- Chalmers, RJ und Ive, FA (1982) Is acute guttate psoriasis with renal disease a rarity? [letter]. *Arch.Dermatol* 118:141
- Chang, EY, Hammerberg, C, Fisher, C und et al (1992) T-cell activation is potentiated by cytokines relesed by lesional psoriatic, but not normal, epidermis. *Arch.Dermatol* 128:1479-1485
- Chang, JC, Smith, LR, Froning, KJ, Schwabe, BJ, Laxer, JA, Caralli, LL, Kurland, HH, Karasek, MA, Wilkinson, DI und Carlo, DJ (1994) CD 8+ T cells in

- psoriatic lesions preferentially use T-cell receptor V beta 3 and/or V beta 13.1 genes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 91:9282-9286
- Cowen, T, Haven, AJ und Burnstock, G (1984) Pontamine sky blue: A counterstain fro bachground autofluorescence in fluorescence and immunofluorescence histochemistry. *Histochemistry* 82:205-208
- D' Urso CM, Wang Z, Cao Y und et al (1991) Lack of HLA class I expression by cultured melanoma cells FO-1 due to a defect in β 2-m gene expression. *J Clin.Invest.* 87:292
- Daar, AS, Fuggle, SV, Fabre, JW, Ting, A und Morris, PJ (1984) The detailed distribution of HLA-A, B, C antigens in normal human organs. *Transplantation* 38:287-292
- de, BO, van der Loos CM, Hamerlinck, F, Bos, JD und Das, PK (1994) Reappraisal of in situ immunophenotypic analysis of psoriasis skin: interaction of activated HLA-DR+ immunocompetent cells and endothelial cells is a major feature of psoriatic lesions. *Arch.Dermatol.Res.* 286:87-96
- Deutscher Psoriasis Bund e.V. (1999) Was ist Psoriasis?
<http://www.debruyne.de>
- Drake CG und Kotzin BL (1992) Superantigens: biology, immunology and potential role in disease. *J Clin Immunol* 12:149-162
- Duffy, DL, Spelman, LS und Martin, NG. (1993) Psoriasis in Australian Twins. *J Am Acad Dermatol* 29:428-434
- Duvic, M (1987) AIDS-associated psoriasis and REITER' s syndrome. *Arch.Dermatol Res.* 123:1022-1033
- Eedy, DJ, Burrows, D, Bridges, JM und Jones, FG (1990) Clearance of severe psoriasis after allogenic bone marrow transplantation *BMJ.* 300:908
- Ellis, CN, Fradin, MS, Messana, JM, Brown, MD, Siegel, MT, Hartley, AH, Rocher, LL, Wheeler, S, Hamilton, TA und Parish, TG (1991) Cyclosporine for plaque-type psoriasis. Results of a multidose, double-blind trial. *N.Engl.J Med* 324:277-284
- Farber, EM und Nall, LM (1974) The natural history of psoriasis in 5600 patiens. *Dermatologica* 148:1-18
- Farber, EM und Nall, LM (1985) Epidemiology of Psoriasis. In: Maibach, HI (Hrsg) New York
- Favre, M, Orth, G, Majewski, S, Baloul, S, Pura, A und Jablonska, S (1998) Psoriasis: A possible reservoir for human papillomavirus type 5, the virus

- associated with skin carcinomas of epidermodysplasia verruciformis. *J Invest.Dermatol* 110:311-317
- Ferrone S und Marincola FM (1995) Loss of HLA class I antigens by melanoma cells: molecular mechanism, functional significance and clinical relevance. *Immunol.Today* 16:487-494
- Fierlbeck, G, Rassner, G und Muller, C (1990) Psoriasis induced at the injection site of recombinant interferon gamma. Results of immunohistologic investigations. *Arch.Dermatol* 126:351-355
- Fleming, KA, McMichael, A, Morton, JA, Woods, J und McGee, JO (1981) Distribution of HLA class I antigens in normal human tissue and in mammary cancer. *J Clin.Pathol.* 34:779-784
- Fry, L (1988) Psoriasis. *Br J Dermatol* 119:445-461
- Fry, L. (1992) *An Atlas of Psoriasis*. The Parthenon Publishing Group Ltd The Encyclopedia of Visual Medicine Series. Lancaster, UK.
- Gardembas-Pain, M, Ifrah, N, Foussard, C, Boasson, M, Saint Andre, JP und Verret, JL (1990) Psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. *Arch.Dermatol* 126:1523
- Garrido F, Cabrera T, Concha A, Glew S und et al (1993) Natural history of HLA expression during tumor development. *Immunol.Today* 14:491-499
- Gielen, V, Mauduit, G, Schmitt, D und Thivolet, J (1987) Reactivity of anti-HLA class I polymorphic monoclonal antibodies with normal human skin. *Hybridoma* 6:545-554
- Gielen, V, Schmitt, D und Thivolet, J (1988) HLA class I antigen (heavy and light chain) expression by Langerhans cells and keratinocytes of the normal human epidermis: ultrastructural quantitation using immunogold labelling procedure. *Arch.Dermatol.Res.* 280:131-136
- Gilhar, A, David, M, Ullmann, Y, Berkutski, T und Kalish, RS (1997) T-lymphocyte dependence of psoriatic pathology in human psoriatic skin grafted to SCID mice. *J.Invest.Dermatol.* 109:283-288
- Glynne, R, Powis, SH, Beck, S, Kelly, A, Kerr, LA und Trowsdale, J (1991) A proteasome-related gene between the two ABC transporter loci in the class II region of the human MHC. *Nature* 353:357-360
- Goldberg AL und Rock KL (1992) Proteolyses, proteasomes and antigen presentation. *Nature* 357:375-379

- Goodfellow PN, Jones EA, van Heyningen V, Solomon E, Bobrow M, Miggiano V und Bodmer WF (1975) The β 2-microglobulin is in chromosome 15 and not in the HLA region. *Nature* 254:267-269
- Gottlieb, SL, Gilleaudeau, P, Johnson, R, Estes, L, Woodworth, TG, Gottlieb, AB und Krueger, JG (1995) Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB₃₈₉IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. *Nat.Med* 1:442-447
- Governa, M und Biguzzi, S (1976) Beta2-microglobulin distribution in human normal tissues. *Eur.J.Immunol.* 6:830-832
- Griffiths, CE, Boffa, MJ, Gallatin, WM und Martin, S (1996) Elevated levels of circulating intercellular adhesion molecule-3 (cICAM- 3) in Psoriasis. *Acta Derm.Venereol.* 76:2-5
- Griffiths, CE, Powles, AV, Leonard, JN, Fry, L, Baker, BS und Valdimarsson, H (1986) Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *Br Med J (Clin.Res.Ed.)* 293:731-732
- Griffiths, CE und Voorhees, JJ (1996) Psoriasis, T cells and autoimmunity. *J R Soc Med* 89:315-319
- Griffiths, C, Voorhees, JJ und Nickoloff, BJ (1989) Charakterization of intercellular adhaesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflammed skin. Modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 20:617
- Grossman, RM, Krueger, J und Yourish, D (1989) Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured humen keratinocytes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 86:6367-71
- Groves, RW, Allen, M, Barker, JN, Haskard, D und McDonald, D (1991) Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1 (ELAM-1) expression in cutaneous inflammation. *Br.J.Dermatol.* 124:117-123
- Gussow, D, Rein, RS, Meijer, I, de, HW, Seemann, GH, Hochstenbach, FM und Ploegh, HL (1987) Isolation, expression, and the primary structure of HLA-Cw1 and HLA-Cw2 genes: evolutionary aspects [published erratum appears in *Immunogenetics* 1988;27(2):158]. *Immunogenetics* 25:313-322
- Harrist, TJ, Ruitter, DJ, Mihm, MCJ, und Bhan, AK (12-1983) Distribution of major histocompatibility antigens in normal skin. *Br J Dermatol* 109:623-633
- Hellgren, L. (1967) The prevalence in sex, age an occupational groups in total population in Sweden. *Almgrist&Wiskell, Göteborg*

- Henderson CA und Highet AS (1988) Acute Psoriasis associated with Lancefield group C and G cutaneous infections. *Br J Dermatol* 118:559-562
- Henseler, T und Christophers, E. (1985) Psoriasis of early and late onset: Charakterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 13:450-456
- Holgate, MC (1975) The age-of-onset of psoriasis and the relationship to parental psoriasis. *Br J Dermatol* 92:443-448
- Ikäheimo, I (1994) Alanin at position 73. *Br J Dermatol* 131:257-259
- Jegasothy, BV, Ackerman, CD, Todo, S, Fung, JJ, Abu-Elmagd, K und Starzl, TE (1992) Tacrolimus (FK 506)-a new therapeutic agent for severe recalcitrant psoriasis. *Arch.Dermatol* 128:781-785
- Kerdel-Vegas, F (1973) The challenge of tropical dermatology. *Trans.St.Johns.Hosp.Dermatol Soc* 59:1-9
- Krueger, GG, Jederberg, WW, Ogden, BE und Reese, DL (1978) Inflammatory and immune cell function in psoriasis: II. Monocyte function, lymphokine production. *J Invest.Dermatol* 71:195-201
- Kundu, N und Fulton, AM (1997) Interleukin-10 inhibits tumor metastasis, downregulates MHC class I, and enhances NK lysis. *Cell Immunol* 180:55-61
- Lefebvre, S, Moreau, P, Dausset, J, Carosella, ED und Paul, P (1999) Downregulation of HLA class I gene transcription in choriocarcinoma cells is controlled by the proximal promoter element and can be reversed by CIITA. *Placenta*. 20:293-301
- Leung, DY, Gately, M, Trumble, A, Ferguson-Darnell, B, Schlievert, PM und Picker, LJ (1995) Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen, via stimulation of interleukin 12 production. *J Exp.Med* 181:747-753
- Leung, DY, Walsh, P, Giorno, R, und Norris, DA (3-1993) A potential role for superantigens in the pathogenesis of psoriasis. *J.Invest.Dermatol* 100:225-228
- Lewis, HM, Baker, BS, Bokth, S, Powles, AV, Garioch, JJ, Valdimarsson, H, und Fry, L (11-1993) Restricted T-cell receptor V beta gene usage in the skin of patients with guttate and chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 129:514-520
- Li, HC. (1982) *Chinese Med* 95:245-248

- Lomholt, G. (1963) Psoriasis: prevalence, spontaneous course and genetics. G.E.C. GAD, Copenhagen
- Mallon, E, Bunce, M, Savoie, H, Gotch, F, und Bunker CB. (1998) HLA-Cw*0602 and Guttate Psoriasis. *J.Invest.Dermatol.* 110:618-618
- Mallon, E, Bunce, M, Wojnarowska, F und Welsh, K (1997) HLA-CW*0602 is a susceptibility factor in type I psoriasis, and evidence Ala-73 is increased in male type I psoriatics. *J.Invest.Dermatol.* 109:183-186
- Mallon, E, Young, D, Bunce, M, Gotch, FM, Easterbrook, PJ, Newson, R und Bunker, CB (1998) HLA-Cw*0602 and HIV-associated psoriasis. *Br J Dermatol* 139:527-533
- Marcusson, JA, Johannesson, A und Moller, E (1981) HLA-A,B,C and DR antigens in psoriasis. *Tissue Antigens.* 17:525-529
- Maudsley, DJ und Pound, JD (1991) Modulation of MHC antigen expression by viruses and oncogenes. *Immunol Today* 12:429-431
- Mavria, G, Hall, KT, Jones, RA und Blair, GE (1998) Transcriptional regulation of MHC class I gene expression in rat oligodendrocytes. *BiochemJ* 330 (Pt 1):155-161
- McCutcheson JA, Gumperz J, Smith KD, Lutz CT und Parham, P (1995) Low HLA-C expression at cell surface correlates with increased turnover of heavy chain mRNA. *J Exp.Med* 181:2085-2095
- Monaco JJ, Cho S und Attaya M (1990) Transport protein genes in the murine MHC: possible implications for antigen processing. *Nature* 250:1723-1726
- Mossman, TR, Cherwinski, H, Bond, MW, Giedkin, MA und Coffman, RL (1986) Two types of murine helper T cell clones I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secretion. *J Immunol* 136:2348-57
- Murphy, GF, Bhan, AK, Sato, S, Harrist, TJ und Mihm, MCJ (1981) Characterization of Langerhans cells by the use of monoclonal antibodies. *Lab.Invest.* 45:465-468
- Murray, C (1980) Histokompatibility alloantigens in psoriasis and psoriatic arthritis: evidence for the influence of multiple genes in the MHC. *J Clin.Invest.* 66:670-675
- Nataraj, C, Eidmann, S, Hariharan, MJ, Sur, JH, Perry, GA, und Srikumaran, S (1997) Bovine herpesvirus 1 downregulates the expression of bovine MHC class I molecules. *Viral.Immunol* 10:21-34
- Neefjes JJ und Ploegh, HL (1988) Allele and locus specific differences in cell surface expression and the association of HLA class I heavy chain with

beta-2-microglobulin: differential effects of inhibition of glycosylation on class I subunit association. *Eur.J.Immunol.* 18:801-810

- Nickoloff, BJ (6-1991) The cytokine network in psoriasis [editorial; comment]. *Arch.Dermatol* 127:871-884
- Nickoloff, BJ, Karabin, GD, Barker, JN, Griffiths, CE, Sarma, V, Mitra, RS, Elder, JT, Kunkel, SL und Dixit, VM (1991) Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumor necrosis factor-alpha in psoriasis. *Am J Pathol.* 138:129-140
- Nickoloff, BJ und Wrono-Smith, T (1998) Superantigens, autoantigens, and pathogenic T cells in psoriasis [letter; comment]. *J.Invest.Dermatol.* 110:459-460
- Obalek, S, Haftek, M und Slinski, W (1977) Immunological studies in psoriasis. The quantitative evaluation of cell-mediated immunity in patients with psoriasis by experimental sensitization to 2,4-dinitrochlorobenzene. *Dermatologica* 155:13-25
- Ohkido, M. (1981) Psoriasis: Proc 3rd Int Sympos. 287-291
- Ortiz-Navarette HG, Seelig A Gernold, Frenz S, Kloetzel PM und Hämmerling HG (1991) Subunit of the '20S' proteasome (multicatalytic protease) encoded by the MHC complex. *Nature* 353:663-665
- Ortonne, JP (1996) Aetiology and pathogenesis of psoriasis. *Br.J.Dermatol.* 135 Suppl 49:1-5
- Ozawa, A, Ohkido, M, Inoko, H, Ando, A und Tsuji, K (1988) Specific restriction fragment length polymorphism on the HLA-C region and susceptibility to psoriasis vulgaris. *J Invest.Dermatol* 90:402-405
- Ozawa, A, Ohkido, M und Tsuji, K (1981) Some recent advances in HLA and skin diseases. *J Am Acad Dermatol* 4:205-230
- Picker, LJ, Kishimoto, TK, Smith, CW, Warnock, RA und Butcher, EC (1991) ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells. *Nature* 349:796-799
- Pitzalis, C, Cauli, A, Pipitone, N, Smith, C, Barker, J, Marchesoni, A, Yanni, G, und Panayi, GS (1-1996) Cutaneous lymphocyte antigen-positive T lymphocytes preferentially migrate to the skin but not to the joint in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 39:137-145
- Prinz, J, Braun-Falco, O, Meurer, M, Daddona, P, Reiter, C, Rieber, P, und Riethmüller, G (8-3-1991) Chimaeric CD 4 monoclonal antibody in treatment of generalised pustular psoriasis [letter]. *Lancet* 338:320-321

- Rajan, VS. (1998) Psoriasis, Proc 3rd Int Sympos. 407-410
- Ramirez-Bosca, A, Martinez-Ojeda, L, Valcuende-Cavero F., und Castells-Rodella, A. (1988) A study of local immunity in psoriasis. Br J Dermatol 119:587-595
- Rea, JN. (1976) Br J Prev Soc Med 30:107-109
- Roitberg-Tambur, A, Friedmann, A, Tzfon, EE, Battat, S, Ben, HR, Safirman, C, Tokunaga, K, Asahina, A und Brautbar, C (1994) Do specific pockets of HLA-C molecules predispose Jewish patients to psoriasis vulgaris? J.Am.Acad.Dermatol. 31:964-968
- Roitt I (1997) Glossary. In: Roitt I (Hrsg) Essential Immunology London
- Roitt I (1997) The Recognition of Antigen. In: Roitt I (Hrsg) Essential Immunology London
- Saurat, JH, Gluckman, E, Didierjean, L, Andersen, E, Sockeel, F und Puissant, A (1977) Cytoplasmic and HL-A antigens in the human epidermis. Br.J.Dermatol. 96:603-608
- Schlaak, JF, Buslau, M, Jochum, W, Hermann, E, Girndt, M, Gallati, H, Meyer zum Buschenfelde KH und Fleischer, B (1994) T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. J Invest.Dermatol 102:145-149
- Schön, MP, Detmar, M und Parker, CM (1997) Murine psoriasis-like disorder induced by naive CD 4+ T cells. Nature Med 3:183-188
- Schroder, JM und Christophers, E (1986) Identification of C5ades arg and an anionic neutrophil-activating peptide (ANAP) in psoriatic scales. J Invest.Dermatol 87:53-58
- Sedgwick, JB, Bergstresser, PR und Hurd, ER (1980) Increased granulocyte adherence in psoriasis and psoriatic arthritis. J Invest.Dermatol 74:81-84
- Seliger B, Dunn T, Schwenzer A und et al (1997) Analysis of the MHC class I Antigen presentation machinery in human embryonal carcinomas: evidence for deficiencies in TAP, LMP and MHC class I expression and their upregulation by IFN-gamma. Scand.J Immunol 46:632
- Seliger B, Hammers S, Höhne A, und et al (1997) INF-gamma mediated coordinated transcriptional regulation of the human TAP-1 and LMP-2 genes in human renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 3:573-578
- Seliger B und Pfitzmair K (1989) Post-transcriptional downregulation of MHC class I expression in oncogene-transformed cells is reverted by INF-alpha and gamma. J Immunogenet 16:315-320

- Seville, RH (1983) *Semin Dermatol* 2:213
- Spies, T, Breshnahan M, Bahram S, Arnold D, Blanck G, Mellins E, Pious D, und DeMars R (1990) A gene in the MHC class I region controlling the class I antigen presentation pathway. *Nature* 348:744-747
- Steinberg, AG (1951) *Am J Human Genet* 3:267
- Stern, RS (1997) Psoriasis. *Lancet* 350:349-353
- Stern, RS und Wu, J (1996) Psoriasis. In: Arndt, KA (Hrsg) *Cutaneous Medicine and Surgery Philadelphia*
- Stoof, TJ, Mitra, RS, Sarma, V, Dixit, VM und Nickoloff, BJ (1992) Keratinocyte activation following T-lymphocyte binding. *J Invest.Dermatol* 98:92-95
- Tas, J. (1947) Psoriasis. *Acta Med Orient* 6:110-115
- Telfer, NR, Chalmers, RJ, Whale, K und Colman, G (1992) The role of streptococcal infection in the initiation of guttate psoriasis. *Arch.Dermatol* 128:39-42
- Tervaert, WC und Esseveld, H (1970) A study of the incidence of haemolytic streptococci in the throat in patients with psoriasis vulgaris, with reference to their role in the pathogenesis of this disease. *Dermatologica* 140:282-290
- Tiilikainen, A (1980) Psoriasis and HLA-Cw6. *Br J Dermatol* 102:179-184
- Ting, JP und Baldwin, AS (1993) Regulation of MHC gene expression. *Curr.Opin Immunol* 5:8-16
- Tiwari, JL, Lowe, NJ, Abramovits, W, Hawkins, BR und Park, MS (1982) Association of psoriasis with HLA-DR7. *Br J Dermatol* 106:227-230
- Townsend A und Bodmer H (1989) Antigen recognition by class-I restricted T-Lymphocytes. *Annu Rev Immuno* 7:601-624
- Trembath, RC, Clough, RL, Rosbotham, JL, Jones, AB, Camp, RD, Frodsham, A, Browne, J, Barber, R, Terwilliger, J, Lathrop, GM, und Barker, JN (5-1997) Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum.Mol.Genet* 6:813-820
- Trowsdale J, Hanson I, Mockridge I, Beck S, Townsend A, und Kelly A (1990) Sequences encoded in the class I region of the MHC related to the 'ABC' superfamily of transporters. *Nature* 348:741-744
- Tsuji, K (1977) Further study on HLA-A,B,C. *Tissue Antigens*. 10:202

- US National Health Survey. (1974) US National Health Survey 1971-74. Vital and Health Statistics Series II
- Valdimarsson, H, Baker, BS, Jonsdottir, I und Fry, L (1986) Psoriasis: a disease of abnormal keratinocyte proliferation induced by T Lymphocytes. *Immunol.Today* 7:256-259
- Valdimarsson, H, Baker, BS, Jonsdottir, I, Powles, A und Fry, L (1995) Psoriasis: a T-cell-mediated autoimmune disease induced by streptococcal superantigens? *Immunol.Today* 16:145-149
- Vekony, V, Holder, J, Eperon, I und Camp, RD. (1996) Determination of T cell receptor expression in early chronic plaque psoriasis by a reproducible anchored CR and dot blotting method and CDR3 spectratyping. *Br J Dermatol* 135:831-835
- Vinninghe, HR und Neumann, HA (1981) The presence of beta2 microglobulin on the membrane of the keratinocyte in premalignant skin disorders. *Br.J.Dermatol.* 104:515-519
- Watson, W, Cann, HM, Farber, EM und Nall, ML (1972) The genetics of psoriasis. *Arch.Dermatol* 105:197-207
- Weinstein, GD und Krueger, JG (1993) An overview of Psoriasis. In: Weinstein, GD (Hrsg) *Therapy of Moderate-to-severe Psoriasis* Portland, Oregon
- Wrone-Smith, T und Nickoloff, BJ (1996) Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J.Clin.Invest.* 98:1878-1887
- Yang Y, Waters JB, Früh K und et al (1992) Proteasomes are regulated by interferone-gamma: implications for antigene processing. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89:4932
- Yewdell JW und Bennink JR (1992) Cell biology of antigen processing and presentation to MHC class I molecule-restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immuno* 52:1-123
- Yue, FY, Dummer, R, Geertsens, R, Hofbauer, G, Laine, E, Manolio, S und Burg, G (1997) Interleukin-10 is a growth factor for human melanoma cells and down- regulates HLA class-I, HLA class-II and ICAM-1 molecules. *Int.J Cancer* 71:630-637
- Zhou, Y und Chaplin, DD (1993) Identification in the HLA class I region of a gene expressed late in keratinocyte differentiation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 90:9470-9474

Zinkernagel RM und Doherty PC (1979) MHC restricted cytotoxic T cells:
Studies on biological role of polymorphic major transplantation antigens
determining T-cell restriction-specificity, function and responsiveness. Adv
Immunol 27:51-77

7. Verzeichnisse

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Pathomechanismus von Psoriasis.....	11
Abbildung 2 Struktur der HLA Klasse I und II Antigene (verändert nach Bjorkman, Saper et al. 1987).....	17
Abbildung 3 T _{helfer} und T _{killer} Zellen sind MHC beschränkt	19
Abbildung 4 Funktionen der HLA Klassen	20
Abbildung 5 Senkrechter Schnitt durch die menschliche Haut. Übersicht über verschiedene Schichten (30x). Verändert nach Bucher O und Wartenberg H 1992.....	28
Abbildung 6 Epidermis der Fingerbeere des Menschen (stratum corneum nur angeschnitten). Verändert nach Bucher O und Wartenberg H 1992.	29
Abbildung 7 Verarbeitung und Expression von endogenem Ag von HLA-I. Verändert nach Roitt I 1997b	49
Abbildung 8 Die Hauptkomponenten im Pathomechanismus von Psoriasis	51
Abbildung 9 Pathomechanismus von Psoriasis.....	52

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	HLA Klasse I Expression in der Epidermis	40
Tabelle 2	HLA Klasse I Expression in der Dermis.....	42

7.3 Fotoverzeichnis

Foto 1	Normale Haut	33
Foto 2	Psoriasis Vulgaris (HIV-), klinisch gesunde Epidermis.....	34
Foto 3	Psoriasis Guttata, klinisch gesunde Epidermis.....	35
Foto 4	Psoriasis Vulgaris (HIV-), Übergang Dermis/Epidermis, klinisch befallene Haut.....	36
Foto 5	Psoriasis Guttata, Übergang Dermis/Epidermis, klinisch befallene Haut.....	37
Foto 6	Psoriasis Vulgaris (HIV-), Epidermis, klinisch befallene Haut	38

8. Danksagung

First of all I would like to thank Dr CB Bunker from the Chelsea and Westminster Hospital (C&W) in London for contributing the idea of this thesis. His support and encouragement has always been stimulating to my work.

Special thanks go to Dr Annie Rowe, C&W, London for her scientific and practical help in the Lab. As well, I thank her and the other staff members of the Department of Dermatology and START for their excellent cooperation. I very much appreciated the challenging but warm working atmosphere in the team.

Auf deutscher Seite gilt mein ganz besonderer Dank Frau Professor Moll für ihre wissenschaftliche Unterstützung und ihre unbürokratische Zusammenarbeit in dieser europäischen Kooperation. Ohne sie wäre die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Ebenso gilt mein Dank den Böhringer-Ingelheim Fonds, deren finanzielle Hilfe den Arbeitsablauf wesentlich unterstützt hat.

Auch gilt mein Dank meinen Eltern, die mir in schwierigen Zeiten stets zur Seite gestanden und mich angespornt haben.

Schließlich möchte ich mich noch bei meiner Freundin Kristina Kortländer bedanken, die mich in London und Hamburg stets unterstützt und ermutigt hat, besonders in schwierigen Situationen.

9. Lebenslauf

Name	Jan Peter Schilling
Geburtsdatum	9. Juli 1971
Geburtsort	Hamburg
Adresse	Vereinsstraße 68 20357 Hamburg Fon: 43 72 95
Eltern	Ernst-Günter Schilling; Prof.Dr. Ursel Schilling; Oberschulrätin
Geschwister	Stefan Schilling; Cand. Med.
Ausbildung	
Schule	
09/1978 - 07/1982	Grundschule Surenland, Hamburg
08/1982 - 07/1991	Gymnasium Farmsen, Hamburg; Abitur am 14.06.1991
Universität	
10/1992 - 10/1999	Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg
11/1999	Approbation zum AiP in Hamburg (12. FS)
Ausland	
09/1995 - 09/1996	Einjähriges Auslandsstudium an der Charing Cross and Westminster Medical School, London, UK
04/1998 – 10/1998	Promotionssemester in den START-Skin- Research-Laboratories im Chelsea and Westminster Hospital; Imperial College Medical School, London, UK
Dienst	
07/1991 - 09/1992	Wehrdienst als Sanitätssoldat im Bundeswehrkrankenhaus Hamburg

Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.