

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten  
- Allgemeine Dermatologie und Venerologie -  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Luger -

**Expression von Serin-Proteinase-Inhibitoren in der Haut:  
Vergleich vom Netherton Syndrom mit  
Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur

Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von:

Oji, Melody Enyinna

aus Münster

2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Traupe

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. K.-P. Zimmer

Tag der mündlichen Prüfung: 15.04.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster - Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten  
- Allgemeine Dermatologie und Venerologie - der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Luger -

Referent: Prof. Dr. med. H. Traupe

Koreferent: Prof. Dr. med. K.-P. Zimmer

## ZUSAMMENFASSUNG

### Expression von Serin-Proteinase-Inhibitoren in der Haut:

### Vergleich vom Netherton Syndrom mit Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis

Oji, Melody Enyinna

Serin-Protease-Inhibitoren spielen eine wichtige Rolle in epidermaler Differenzierung und Verhornung. Serpine ähneln sich strukturell und bewirken die Inhibition ihrer Zielprotease über einen spezifischen Suizid-Mechanismus. Zur Untergruppe der Ov-Serpine gehören PAI-2, Hurpin und Bomapin. LEKTI ist ein neuartiger Serin-Protease-Inhibitor mit 15 einzelnen potentiell inhibitorischen Domänen und wird von *SPINK5* kodiert (Mägert *et al.*, 1999). Mutationen in *SPINK5* sind ursächlich für das Netherton Syndrom (Chavanas *et al.*, 2000), das aufgrund der ausgeprägten atopischen Diathese als eine Modellerkrankung für die atopische Dermatitis gilt. Der Mangel an LEKTI bewirkt eine unzureichende Inaktivierung von Stratum corneum tryptischem und chymotryptischem Enzym (SCTE, bzw. SCCE). In Folge kommt es zu einer verstärkten Abschuppung und Entzündung der Epidermis (Komatsu *et al.*, 2002). Auf immunhistochemischer Ebene finden sich einige Gemeinsamkeiten des Netherton Syndroms mit der Psoriasis vulgaris, z. B. die erhöhte Expression von Transglutaminase 1 und Elafin (Raghunath *et al.*, 2004).

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob außer Elafin noch andere Serin-Protease-Inhibitoren in der Netherton-Epidermis vermehrt exprimiert werden und ob es beim Netherton Syndrom und bei Psoriasis vulgaris, bzw. bei atopischer Dermatitis, Parallelen in der Expression von LEKTI, Elafin, PAI-2, Hurpin und Bomapin gibt. Zu diesem Zweck wurde die Expression dieser Proteine an Kryostatschnitten von 32 unterschiedlichen Individuen mittels Immunfluoreszenz-Mikroskopie analysiert. Beim Netherton Syndrom (n=6) ist die Elafin-Expression erhöht, ebenso die Expression der Ov-Serpine PAI-2 (6 / 6) und teilweise Bomapin (3 / 6). Hurpin ergab kein einheitliches Ergebnis. Insgesamt zeigt sich ein paralleles Muster zur Psoriasis vulgaris (n=10). Interessanterweise ist auch hier die LEKTI-Expression erniedrigt (10 / 10). Bei atopischer Dermatitis (n=6) entspricht die Expression der untersuchten Proteine überwiegend der Normalhaut (n=10).

Die Ergebnisse legen nahe, dass beim Netherton Syndrom und bei Psoriasis vulgaris gemeinsame pathophysiologische Grundlagen bestehen. Im nächsten Schritt wäre die Untersuchung von *SPINK5*-Polymorphismen bei Psoriasis vulgaris wissenschaftlich sehr interessant.

Tag der mündlichen Prüfung: 15.04.2005

# Inhaltsverzeichnis

	<i>Seite</i>	
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	
1.1	Aufbau der Epidermis	- 1 -
1.2	Die Verhornung	- 2 -
1.2.1	Synthese der Zytokeratine	- 2 -
1.2.2	Synthese der Filaggrinfilamente	- 3 -
1.2.3	Synthese des Barrierelipids	- 3 -
1.2.4	Synthese des „cornified cell envelope“	- 4 -
1.3	Ichthyosen	- 8 -
1.3.1	Beschreibung und Klassifikation der Ichthyosen	- 8 -
1.3.2	Das Netherton Syndrom	- 11 -
1.3.3	LEKTI	- 14 -
1.4	Psoriasis	- 17 -
1.4.1	Psoriasis vulgaris	- 17 -
1.5	Atopische Dermatitis	- 23 -
1.6	Serin-Proteasen der Haut und ihre Inhibitoren	- 30 -
1.7	Elafin	- 33 -
1.8	Serpine	- 35 -
1.8.1	Ovalbumin Serpine	- 37 -
1.8.1.1	Plasminogen activator inhibitor-2/Serpin B2	- 39 -
1.8.1.2	Hurpin/Serpin B13	- 42 -
1.8.1.3	Bomapin/Serpin B10	- 44 -
1.9	Fragestellung	- 45 -
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	
2.1	Materialgewinnung und Lagerung	- 47 -
2.2	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI/Immunfluoreszenz	- 47 -
2.2.1	Reagenzien und Probematerialien	- 47 -
2.2.2	Lösungen	- 48 -
2.2.3	Versuchsdurchführung	- 49 -
2.3	Immunhistochemische Darstellung von Elafin/Immunfluoreszenz	- 51 -
2.3.1	Reagenzien und Probematerialien	- 51 -
2.3.2	Lösungen	- 52 -
2.3.3	Versuchsdurchführung	- 53 -
2.4	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 (Serpin B2)/Immunfluoreszenz	- 54 -

	<i>Seite</i>
2.4.1	Reagenzien und Probematerialien - 54 -
2.4.2	Lösungen - 55 -
2.4.3	Versuchsdurchführung - 56 -
2.5	Immunhistochemische Darstellung von Hurpin (Serpine B13)/Immunfluoreszenz - 57 -
2.5.1	Reagenzien und Probematerialien - 58 -
2.5.2	Lösungen - 58 -
2.5.3	Versuchsdurchführung - 59 -
2.6	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin (Serpine B10)/Immunfluoreszenz - 60 -
2.6.1	Reagenzien und Probematerialien - 60 -
2.6.2	Lösungen - 61 -
2.6.3	Versuchsdurchführung - 62 -
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>
3.3	Beurteilungskriterien bei der Auswertung immunhistochemischer Färbungen - 63 -
3.4	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI - 63 -
3.4.1	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI in Normalhaut - 63 -
3.4.2	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI bei Psoriasis vulgaris - 64 -
3.4.3	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI bei atopischer Dermatitis - 65 -
3.4.4	Immunhistochemische Darstellung von LEKTI beim Netherton Syndrom - 65 -
3.4.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit LEKTI - 66 -
3.5	Immunhistochemische Darstellung von Elafin - 69 -
3.5.1	Immunhistochemische Darstellung von Elafin in Normalhaut - 69 -
3.5.2	Immunhistochemische Darstellung von Elafin bei Psoriasis vulgaris - 69 -
3.5.3	Immunhistochemische Darstellung von Elafin bei atopischer Dermatitis - 70 -
3.5.4	Immunhistochemische Darstellung von Elafin beim Netherton Syndrom - 70 -
3.5.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Elafin - 71 -
3.6	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 - 73 -
3.6.1	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 in Normalhaut - 73 -
3.6.2	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 bei Psoriasis vulgaris - 74 -
3.6.3	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 bei atopischer Dermatitis - 75 -
3.6.4	Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 beim Netherton Syndrom - 76 -
3.6.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit PAI-2 - 77 -
3.7	Immunhistochemische Darstellung von Hürpin - 79 -
3.7.1	Immunhistochemische Darstellung von Hürpin in Normalhaut - 79 -
3.7.2	Immunhistochemische Darstellung von Hürpin bei Psoriasis vulgaris - 80 -
3.7.3	Immunhistochemische Darstellung von Hürpin bei atopischer Dermatitis - 81 -

	<i>Seite</i>	
3.7.4	Immunhistochemische Darstellung von Hurpin beim Netherton Syndrom	- 82 -
3.7.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Hurpin	- 83 -
3.8	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin	- 85 -
3.8.1	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin in Normalhaut	- 85 -
3.8.2	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin bei Psoriasis vulgaris	- 86 -
3.8.3	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin bei atopischer Dermatitis	- 87 -
3.8.4	Immunhistochemische Darstellung von Bomapin beim Netherton Syndrom	- 88 -
3.8.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Bomapin	- 89 -
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	
4.1	Rekapitulation der Ergebnisse	- 91 -
4.2	Interpretation der Ergebnisse	- 94 -
4.2.1	Expression von LEKTI	- 94 -
4.2.2	Expression von Elafin	- 97 -
4.2.3	Expression von PAI-2	- 99 -
4.2.4	Expression von Hurpin	-101 -
4.2.5	Expression von Bomapin	-103 -
4.3	Zusammenfassung	-105 -
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	-107 -
<b>6</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	
<b>7</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	

**Curriculum vitae**

**Danksagung**

# 1 Einleitung

## 1.1 Aufbau der Epidermis

Die Epidermis ist in der Regel circa 1 mm dick und besteht zu 90% aus Keratinozyten. Die restlichen 10% der Zellpopulation werden von Melanozyten, Merkelzellen, Langerhanszellen und T-Lymphozyten gebildet. Die mechanische Verbindung zur Dermis wird durch ein komplexes Haltesystem aus Hemidesmosomen, Ankerfilamenten und Ankerfibrillen -epidermale Junctionszone- gewährleistet.

Durch unterschiedliche Reifungszustände der Keratinozyten (epidermale Differenzierung) entsteht das mehrschichtige Plattenepithel (Abb. 1.1). Man unterscheidet histologisch von basal nach apikal fünf Schichten.

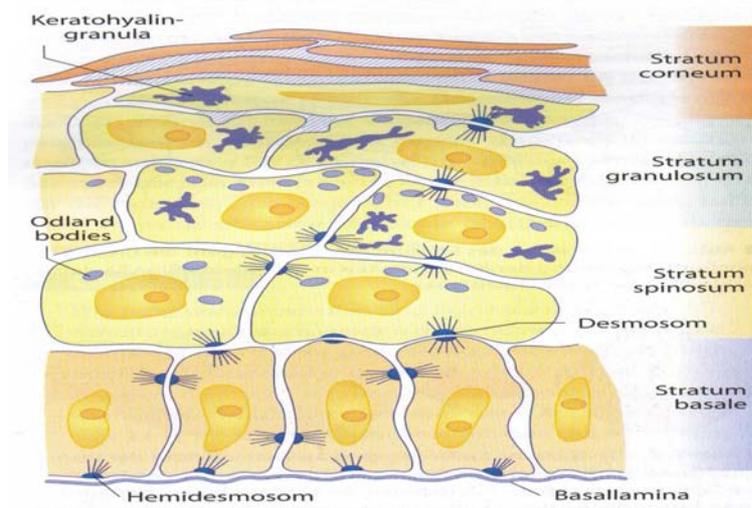


Abb. 1.1: Struktur der Epidermis

Direkt auf der Basalmembran, die im wesentlichen ein Syntheseprodukt der Keratinozyten darstellt, liegt das Stratum basale. Das Stratum basale besteht aus einlagigen, zylindrischen Zellen. Dieser Zellschicht folgt das, aus zwei bis fünf Zellschichten aufgebaute, Stratum spinosum - die Stachelzellschicht. Das Stratum granulosum besteht aus ein bis drei Zellschichten abgeflachter Keratinozyten, die durch basophile Keratohyalinkörner gekennzeichnet sind, und liegt dem Stratum spinosum auf. Das dünne und lichtmikroskopisch homogene Stratum lucidum findet sich in der dicken Epidermis der Handteller und Fußsohlen. Oberhalb des Stratum granulosum liegt die Transitionszone. Hier werden die Zellkerne pyknotisch und verschwinden zum Stratum corneum hin vollständig. Im Stratum corneum, der äußeren Hornschicht, sind die Keratinozyten kernlos (Korneozyten). Die Korneozyten bestehen aus

Keratinfilamenten in einer amorphen Proteinmatrix und sind von einem starren „cornified cell envelope“ umhüllt. Die Zellen sind in einer streng geometrischen Anordnung aneinander fixiert. Die Anzahl der Schichten im Stratum corneum variiert je nach Körperregion von circa 15 – 20 an der Bauchhaut bis zu mehreren 100 an Handteller und Fußsohle. Ein Lipidfilm zwischen den Korneozyten sorgt für die Aufrechterhaltung des Hydrationszustandes und für eine intakte epidermale Barriere.

Die Zellen der Epidermis sind durch Adhäsionsverbindungen miteinander verbunden. Desmosomen und Adhärenzkontakte dienen der interzellulären Adhäsion und der Insertion von Filamenten, während Gap-junctions Kommunikationskanäle zwischen den Zellen darstellen (Fritsch, 2003; Kerl *et al.*, 2003).

## **1.2 Die Verhornung**

Keratinozyten stellen eine sich kontinuierlich erneuernde Zellpopulation dar. Mitosen finden normalerweise hauptsächlich im Stratum basale statt. Die Selbsterneuerung der Stammzellen in den Retezapfen und in den Haarfollikeln der Epidermis hält sich die Waage mit terminaler Differenzierung und Apoptose. Suprabasale Zellteilungen kommen an Handtellern und Fußsohlen sowie bei pathologischen Hautzuständen vor. Der Keratinozyt wandert unter Veränderung seiner Struktur (Basalzelle, Stachelzelle, Körnerzelle und Hornzelle) vom Stratum basale zum Stratum corneum, dort kommt es zur Abschilferung der Zellen. Das gesunde Gleichgewicht zwischen Proliferation und Desquamation führt innerhalb von ungefähr 4 Wochen zu einer vollständigen Erneuerung der Epidermis.

Die Differenzierung der Keratinozyten wird durch verschiedene Gene, die zu einer veränderten Expression von Strukturproteinen und zu Enzymaktivierungen im Rahmen der Lipidsynthese führen, gesteuert. Die Synthese der folgenden vier Komponenten steht im Mittelpunkt des Geschehens:

### **1.2.1 Synthese der Zytokeratine**

Die hochstabilen, unlöslichen Zytokeratine bestehen aus Polypeptiden von 40 – 70 kd und bilden die Grundbausteine der Keratinfilamente. Während der Differenzierung der Keratinozyten werden die niedermolekularen basalen Zytokeratine K5 und K14 auf

transkriptionaler Ebene zugunsten der hochmolekularen Zytokeratine K1 und K10 im Stratum spinosum zurückgedrängt. Im Stratum granulosum wird vor allem Keratin K2e exprimiert. Spezifisch für die Palmoplantarhaut ist das suprabasale Keratin 9. Keratinfilamente dienen als mechanisches Verspannungs- und Verankerungssystem der Keratinozyten. Sie verlaufen durch die Keratinozyten und inserieren an Desmosomen und Hemidesmosomen (Fritsch, 2003).

### **1.2.2 Synthese von Filaggrin**

Der Aufbau von Keratinen ist eng mit der Synthese von Filaggrin verknüpft. Im Stratum spinosum bildet Profilaggrin mit Keratinfilamenten zunächst Keratohyalin granula. Aus Profilaggrin gehen durch posttranskriptionale Modifikation die stark basischen Filaggrine hervor. Im Zuge der Differenzierung im Stratum granulosum führt Filaggrin zur Aggregation der Keratinfilamente und zu deren Vernetzung durch Disulfidbrücken. Hierdurch ist die Bildung des unlöslichen Keratins abgeschlossen (Fritsch, 2003).

### **1.2.3 Synthese des Barrierelipids**

Die Keratinozyten der unteren Epidermis enthalten überwiegend membrangebundene Phospholipide. Im oberen Stratum spinosum erfolgt die Synthese der „lamellar bodies“ („Odland bodies“). Das sind kleine Zellorganellen, die, umgeben von einer Membran, parallel angeordnete Plättchen aus Glukosylceramiden, Sterolestern und Phospholipiden enthalten. Diese Fette sind Vorläufer der interzellulären Lipide des Stratum corneum. Die „lamellar bodies“ verschmelzen am Übergang des Stratum granulosum in das Stratum corneum mit der Plasmamembran und die Lipide werden zusammen mit sauren Hydrolasen in den Interzellulärraum ausgestoßen. Diese Enzyme spalten die Phospholipide und wandeln Glukosylceramide in Ceramide um. Auf diese Weise entsteht das Barrierelipid, das zu breiten, parallelen Lipidlamellen remoduliert wird. Der Interzellulärraum wird wasserdicht abgeschlossen, dies begrenzt den transepidermalen Wasserverlust und schützt den Körper so vor Austrocknung (Fritsch, 2003; Madison, 2003). Die enzymatische Umwandlung der Fettsäuren im Stratum corneum hat darüber hinaus eine „second-messenger-Funktion“, die

das Proliferations- und Differenzierungsgleichgewicht in der tieferen Epidermis beeinflussen kann (Fritsch, 2003).

#### 1.2.4 Synthese des „cornified cell envelope“

Am Übergang vom Stratum granulosum zum Stratum corneum bilden terminal differenzierende Keratinozyten den „cornified cell envelope“ (CE). Diese unlösliche Proteinhülle umgibt den einzelnen Korneozyten und ist mit dem ihr außen anliegenden „lipid envelope“ verbunden. Beide Schichten sind unabdingbar für eine effektive physikalische Barriere und Schutz vor transepidermaletem Wasserverlust. Schäden in der Synthese der Eiweiß- oder Fettkomponenten dieser Schichten führen zu gestörter Barrierefunktion mit teilweise lebensbedrohlichen Konsequenzen.

Viele der Gene die für Proteine des CE kodieren liegen gemeinsam im „epidermal differentiation complex“ auf Chromosom 1q21. Sie haben eine gewisse Sequenzähnlichkeit, insbesondere enthalten sie Glutamin- und Lysin-reiche Abschnitte, die durch Transglutaminasen quervernetzt werden können. Proteine des CE sind:

- Involukrin: wichtig im Initialstadium der CE-Synthese, fördert Quervernetzung anderer CE-Proteine, bindet an Fettsäuren
- Lorikrin: Hauptkomponente des CE, 70% des CE-Gewichts
- Filaggrin: bündelt Keratinfilamente
- Annexin I: bildet Kalzium-Milieu an der Membran für die Initiation der CE-Synthese?
- SPRs (small prolin rich proteins): Quervernetzung des CE
- S100A1-A13: bildet Kalzium-Milieu an der Membran für die Initiation der CE-Synthese?
- Keratine: stabilisieren die Zellform
- Desmoplakin: Quervernetzung mit anderen Proteinen
- Envoplakin: Initiation der CE-Synthese, bindet Keratinfilamente, Verbindung mit Fettsäuren
- Periplakin: Initiation der CE-Synthese, Verbindung mit Fettsäuren
- Trichohyalin: flexible Quervernetzung von Proteinen?
- Cystatin A: Protease-Inhibitor
- Elafin: Elastase-Inhibitor

Weniger bekannt sind:

- LEP/XP-5: (9-12 kDa groß, verwandt mit den SPRs) Quervernetzung von Proteinen?
- Repetin: (100 kDa groß, Kalzium-bindend) Quervernetzung von Proteinen?
- Sciellin: (76 kDa groß, findet sich in der Zellperipherie) Aufbau des CE-Gerüsts?

Der „lipid envelope“ ist eine monomolekulare Schicht von Ceramiden, die über Esterverbindungen kovalent mit dem CE verbunden sind. Hauptbestandteil der Ceramide ist ein Acylglukosylceramid, das aus - mit Linolsäuren verknüpften -  $\omega$ -Hydroxysäuren besteht.

Die Unlöslichkeit des CE wird durch  $N\epsilon$ - $\gamma$ -Glutamyl-Lysin-Isopeptid-Querverbindungen zwischen den Komponenten des CE bedingt. Diese Verbindungen werden durch Kalzium-abhängige Transglutaminasen katalysiert. Beim Menschen sind 9 verschiedene Transglutaminasen bekannt. Transglutaminasen 1, 2, 3, 5, 6 und 7 werden in Epithelien exprimiert, bislang wurden aber nur Transglutaminasen 1, 3 und 5 als Enzyme des CE identifiziert. Transglutaminasen verknüpfen Glutaminreste von Proteinen mit Polyaminen (ergibt mono- oder disubstituierte Proteinderivate), mit der  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> Gruppe von Eiweiß-gebundenem Lysin (ergibt die  $N\epsilon$ - $\gamma$ -Glutamyl-Lysin-Isopeptid-Querverbindungen) und mit der  $\omega$ -Hydroxygruppe von epidermalen Ceramiden (ergibt Lipid-Ester Verbindungen). Somit spielen Transglutaminasen eine wichtige Rolle beim Aufbau des CE (Kalinin *et al.*, 2002). Eine andere Gruppe quervernetzender Enzyme im CE sind Kalzium-abhängige Sulfhidryloxidasen (Madison, 2003).

Der Aufbau des CE verläuft in drei Schritten (Abb. 1.2):

### **I. Initiation**

Beim Anstieg des intrazellulären Kalzium-Spiegels werden Envoplakin, Periplakin und Involukrin exprimiert. Envoplakin und Periplakin bilden stabile Heterodimere und lagern sich ebenso wie Involukrin der Plasmamembran von innen an. Zeitgleich wird auch Transglutaminase 1 exprimiert und assoziiert mit der Plasmamembran. Sowie der intrazelluläre Kalzium-Spiegel weiter ansteigt, verknüpft die Transglutaminase 1 die Plakine und Involukrin durch  $N\epsilon$ - $\gamma$ -Glutamyl-Lysin-Isopeptid-Querverbindungen. Das Enzym verknüpft auch andere Membran-assoziierte und desmosomale Proteine, dadurch verändern sich die dynamischen Eigenschaften der Zell-zu-Zellverbindungen. Entlang der Innenseite der Plasmamembran entsteht eine monomolekulare Schicht aus verknüpftem Involukrin, Periplakin und Envoplakin, die als Gerüst für den weiteren Aufbau des CE dient.

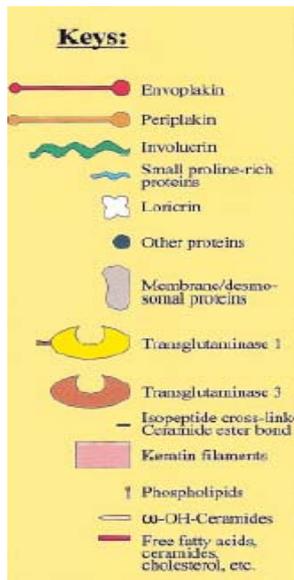
## II. Entstehung des „lipid envelope“

Die „lamellar bodies“ enthalten langkettige  $\omega$ -Hydroxyceramide, freie Fettsäuren, Cholesterol und andere Ceramide, und fusionieren an der Grenze vom Stratum granulosum zum Stratum corneum mit der Plasmamembran. Dabei werden die Fette in das extrazelluläre Milieu freigesetzt. Die langen Fettsäureseitenketten der  $\omega$ -Hydroxyceramide reichen durch die Plasmamembran in das Innere der Zelle. Dort werden sie von membrangebundener Transglutaminase 1 durch kovalente Esterbindungen mit den Glutaminresten der Gerüstproteine verknüpft. Schließlich ersetzen die Ceramide die Plasmamembran und organisieren extrazelluläre Lipide zu charakteristischen Lamellen, die das Barrierelipid (siehe oben) bilden.

## III. Verstärkung

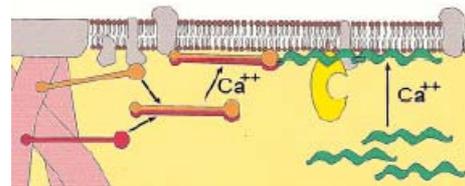
Der CE der Epidermis besteht zu 80% aus Lorikrinkomplexen mit kleinen Prolin-reichen Proteinen (small proline-rich proteins=SPR). Lorikrin ist ein unlösliches Protein, das wahrscheinlich durch Transglutaminase 3 mit den sehr gut löslichen SPRs verbunden wird. Dadurch wird auch Lorikrin löslicher und die Lorikrin-SPR-Oligomere werden zur Zellperipherie transportiert. Hier erfolgt die Quervernetzung mit dem schon bestehenden Proteingerüst. Das hohe Maß an Quervernetzung führt zu einer starken Rigidität der Hornzelle und zur Resistenz gegenüber Keratolytika und organischen Lösungsmitteln. SPRs modulieren die mechanischen Funktionen des CE, erhöhter SPR-Gehalt geht mit verstärkter mechanischer Belastbarkeit des Gewebes einher. Eine ähnliche Funktion haben Repetin, Trichohyalin, Cystatin alpha, Elafin und LEP/XP-5 Proteine, die auch mit dem CE quervernetzt werden.

In der Zwischenzeit werden die meisten anderen Zellorganellen sowie die junktionalen Proteine abgebaut. Keratinfilamente (Keratin 1, Keratin 2e, Keratin 10) und Filaggrine werden mit den Proteinen des CE quervernetzt. Die Integration der Proteine des Zytoskeletts in den CE gewährleistet die Aufrechterhaltung der epidermalen Zellstruktur. Der Korneozyt enthält kovalent mit dem CE verbundene Keratinfilamente und ist in Lipidlamellen eingebettet. Der reife CE ist 10nm dick und unmittelbar mit dem, ihm aufliegenden, 5nm dicken, „lipid envelope“ verbunden. Gemeinsam bieten beide Strukturen mechanischen Schutz sowie eine Wasserbarriere, die für das Überleben der Säugetiere auf dem Land notwendig ist (Kalinin *et al.*, 2001).

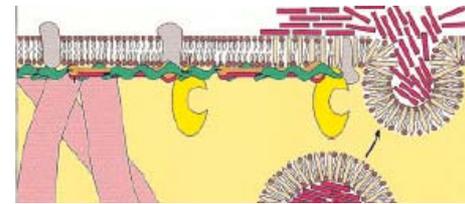


Legende

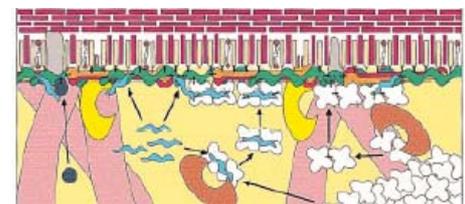
I. Initiation



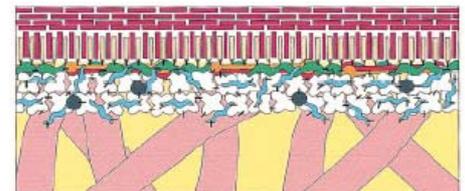
II. Entstehung des „lipid envelope“



III. Verstärkung



IV. fertiger CE



(Kalinin et al., 2001)

Abb. 1.2: Aufbau des „cornified cell envelope“

Mangel an einzelnen Proteinen des CE oder an Transglutaminase 1, sowie Störungen in der Lipidmembransynthese, führt zu Behinderungen im Aufbau des CE und zu Verhornungsstörungen. Einige Beispiele für pathologische Verhornung und deren (mögliche) Ursache sind:

- Lorikrin Keratoderma: Mutationen im Lorikrin-Gen
- Ichthyosis vulgaris: Eventuell Filaggrin-Mangel
- Lamelläre Ichthyose: Transglutaminase 1-Mangel
- Harlequin Ichthyose: Störung in der Sekretion der „lamellar bodies“

### **1.3 Ichthyosen**

Das Wort Ichthyose leitet sich von dem griechischen Wort für Fisch „Ichthys“ ab und bedeutet wörtlich „Fischschuppenkrankheit“. Diese Bezeichnung entstand im 18. Jahrhundert, in einer Zeit in der Merkmale menschlicher Krankheiten mit tierischen Charakteristika verglichen wurden (Traupe, 1989).

Heutzutage ist Ichthyose ein Überbegriff für eine Vielzahl erblicher Verhornungsstörungen. Diesen Verhornungsstörungen ist, trotz unterschiedlicher genetischer Ursachen und sehr variabler klinischer Ausprägung, eine übermäßige Hornproduktion am gesamten Integument gemein. Klinisch fällt vor allem die Schuppung auf, die von kleinlamellär über mittellamellär bis großlamellär und von hellbraun bis dunkelbraun reicht. Histologisch und ultrastrukturell bestehen große Unterschiede zwischen den einzelnen Ichthyosen. Die meisten Ichthyosen bestehen lebenslänglich und stellen je nach Ausprägung für die Betroffenen schwere Erkrankungen dar. Ein großer Teil der molekularbiologischen Grundlagen der Erkrankungen ist bis heute unbekannt.

#### **1.3.1 Beschreibung und Klassifikation der Ichthyosen**

Die erste Beschreibung einer Ichthyose in der Literatur liegt ungefähr 300 Jahre zurück. Im Jahr 1731 stellte der englische Astronom John Machin der Royal Society of London den 14-jährigen Edward Lambert vor. Der junge Mann litt an einer schweren Ichthyosis hystrix. Im 19. Jahrhundert folgte die Beschreibung des Harlequin Fetus, der Ichthyosis vulgaris und der X-chromosomale Ichthyose. Um die Mitte des 20. Jahrhunderts wurden einige Ichthyose-assoziierte Syndrome wie das Refsum Syndrom, das Sjörgren-Larsson Syndrom und das Comèl-Netherton Syndrom entdeckt (Traupe, 1989).

1989 etablierte Traupe die moderne Einteilung der Ichthyosen in vier Hauptgruppen:

1. Isolierte vulgäre Ichthyosen
2. Assoziierte vulgäre Ichthyosen
3. Isolierte kongenitale Ichthyosen
4. Assoziierte kongenitale Ichthyosen

Sich bei der Geburt manifestierende Erkrankungen mit Beteiligung der Beugen und eventuell der Hand- und Fußsohlen (kongenitale Ichthyosen), werden von später auftretenden Ichthyosen, die die großen Beugen sowie Hand und Fußsohlen aussparen, (vulgäre Ichthyosen) unterschieden. Zusätzlich differenziert diese Einteilung zwischen isoliert auftretenden Erkrankungen und Ichthyose-assoziierten Syndromen (Traupe, 1989).

Die weitere Subklassifikation erfolgt anhand von klinisch-genetischen sowie anhand von biochemischen, histologischen und ultrastrukturellen Kriterien (Tab. 1.1).

Tabelle 1.1: Einteilung der Ichthyosen nach Traupe mit Vererbungsmodus (Traupe, The Ichthyoses, 1989)

Gruppe	Erkrankung	Vererbungsmodus
1. Isolierte vulgäre Ichthyosen	Autosomal dominante Ichthyosis vulgaris	autosomal-dominant
	X-chromosomal rezessive Ichthyose	X-chromosomal rezessiv
2. Isolierte kongenitale Ichthyosen	<u>Lamelläre Ichthyosen</u>	
	Autosomal dominante lamelläre Ichthyose	autosomal-dominant
	Erythrodermische lamelläre Ichthyose	autosomal-rezessiv
	Nicht-erythrodermische lamelläre Ichthyose	autosomal-rezessiv
	<u>Bullöse Ichthyosen</u>	
	Bullöse ichthyotische Erythrodermie	autosomal-dominant
	Ichthyosis bullosa Siemens	autosomal-dominant
<u>Spezielle Varianten</u>		
Ichthyosis hystrix Typ Curth-Macklin	autosomal-dominant	
Harlequin Ichthyose	autosomal-rezessiv	

3. Assoziierte vulgäre Ichthyosen	Refsum-Syndrom	autosomal-rezessiv
	Multipler Sufatasemangel	autosomal-rezessiv
	Assoziierter Steroidsulfatasemangel	X-chromosomal rezessiv
	Atypische Ichthyosis vulgaris mit Hypogonadismus	unbekannt
4. Assoziierte kongenitale Ichthyosen	KID-Syndrom (Keratose, Ichthyose und Gehörlosigkeit)	autosomal-dominant
	X-chromosomale dominante Ichthyose	X-chromosomal dominant, letal für betroffene männliche Embryonen
	Comèl-Netherton Syndrom	autosomal-rezessiv
	Neutrale Fett Speicher Krankheit	autosomal-rezessiv
	Sjörgren-Larsson Syndrom	autosomal-rezessiv
	Tay-Syndrom	autosomal-rezessiv
	HID-Syndrom (Hystrix-ähnliche Ichthyose mit Gehörlosigkeit)	unbekannt
	IFAP-Syndrom (follikuläre Ichthyose, Atrichie, Photophobie)	unbekannt

### 1.3.2 Das Netherton Syndrom

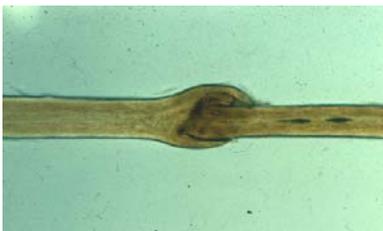
Das Netherton Syndrom (Comèl, 1949; Netherton, 1958) ist eine seltene, autosomal rezessive Genodermatose, die mit kongenitaler Ichthyose, Trichorrhexis invaginata und atopischer Diathese einhergeht (Abb. 1.3) (Traupe, 1989). Die Inzidenz beträgt 1: 200 000.



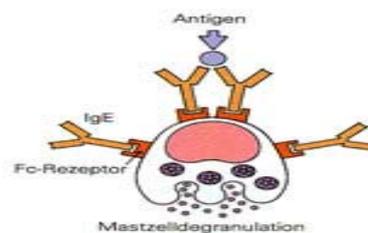
a) Congenitale ichthyosiforme Erythrodermie



b) Ichthyosis linearis circumflexa



c) Trichorrhexis invaginata / Bambus-Haare



d) erhöhte IgE-Spiegel / Eosinophilie

(Fotos: Universitätshautklinik, Münster)

Abb. 1.3 a)-d): Klinische Merkmale des Netherton Syndroms

#### Klinisches Bild

Das Hautbild ist variabel, oft zeigt sich schon bei der Geburt oder kurz danach eine kongenitale ichthyosiforme Erythrodermie. Diese bleibt entweder lebenslänglich bestehen oder entwickelt sich in eine Ichthyosis linearis circumflexa mit serpiginösen, von doppelseitigen Schuppen begrenzten Plaques (Comèl, 1949, Hausser und Anton-Lamprecht, 1996).

Trichorrhexis invaginata, Bambushaar, ist eine Haarschaftanomalie, die sich im Lichtmikroskop an Kopfharen und Augenbrauen durch eine Invagination der distalen Anteile des Haarschafts in proximale Haarschaftanteile nachweisen lässt. Ursächlich sind vorübergehende, aber immer wiederkehrende Defekte der Keratinisation (Sybert, 1997). Trichorrhexis invaginata ist pathognomonisch für das Netherton Syndrom, jedoch nicht immer nachweisbar, da nicht alle Haare befallen sein müssen und der Defekt im Laufe des

Lebens in unterschiedlicher Ausprägung auftritt (Stevanovic, 1969). Weitere eventuell vorkommende Haarschaftanomalien sind Pili torti und Trichorrhexis nodosa (Sprecher *et al.*, 2001). Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Prof. Traupe haben gezeigt, dass sich die Haare von Patienten mit Netherton Syndrom leicht ausziehen lassen und offensichtlich schlecht in der Haarwurzelscheide verankert sind (Adhärenzdefekt).

Die atopische Diathese äußert sich in hohen Serum IgE-Spiegeln, Hypereosinophilie, atopischer Dermatitis, Polliosis, Angioödem, Urtikaria und Ekzemen (Judge *et al.*, 1994).

Viele Patienten erleiden wiederholt schwere bakterielle Infektionen. In der Neugeborenenperiode kommt es gehäuft zu hypernatriämischer Dehydratation, Hypothermie, Bronchopneumonien, Sepsis, Gewichtsverlust und Entwicklungsverzögerung. Diese Komplikationen der Erkrankung führen zu einer hohen Letalität von bis zu 20%. Da es keine spezifische Therapie gibt ist die Prognose schlecht (Judge *et al.*, 1994).

### Ätiologie

2 000 identifizierten Chavanas *et al.* SPINK5 (serine protease inhibitor, Kazal-type 5) als das defekte Gen beim Netherton Syndrom (Abb. 1.4). SPINK5 liegt auf Chromosom 5q31-32 und kodiert für das Protein LEKTI (Lympho-Epithelial Kazal Type Inhibitor). Bislang sind 34 verschiedene Mutationen im SPINK5-Gen beim Netherton Syndrom beschrieben. Die Mutationen führen zu vorzeitigem Stop-codons und zum frühzeitigem Abbruch der Translation und haben somit einen LEKTI-Mangel zur Folge (Chavanas *et al.*, 2000). Der LEKTI-Mangel ist ursächlich für die klinische Ausprägung des Netherton-Syndroms (weitere Erläuterungen zu LEKTI siehe unten).

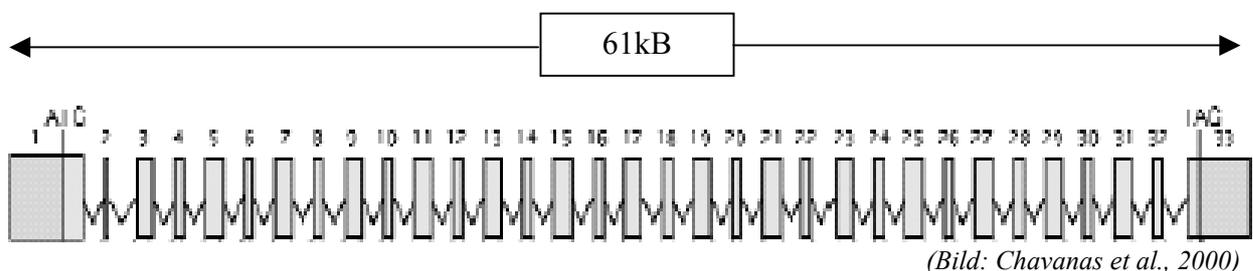


Abb. 1.4: SPINK5 besteht aus 33 Exons und ist 61 kb lang

## **Histologie**

Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zeigen eine unvollständige und gestörte Verhornung der Epidermis. In den kornealen und granulären Zellschichten finden sich missgestaltete, eosinophile, PAS-positive Granulae. Es kommt zu ausgeprägten fokalen Parakeratosen mit psoriasiformen epidermalen Hyperplasien und intraepidermaler Akkumulation von pyknotischen Granulozyten. Das Stratum corneum ist in vielen Fällen vom der darunter liegenden Epidermis abgehoben, dadurch entsteht eine subkorneale Spalte. Das Stratum granulosum ist verschmälert oder fehlt gänzlich. Die Keratinozyten in den oberen Schichten des Stratum spinosum können auffällig vakuolisiert und degeneriert sein. Die Dermis ist entzündlich infiltriert (Kerl *et al.*, 2003) Unter dem Elektronenmikroskop sieht man runde zytoplasmatische Einschlusskörperchen in den Keratinozyten des Stratum granulosum und des Stratum corneum. Das Desmosom-Tonofilament-Netzwerk ist reduziert und „lamellar bodies“ und Filaggrine sind nicht nachweisbar (Traupe, 1989). Histopathologisch ähnelt das Netherton Syndrom in Teilaspekten sowohl der Psoriasis als auch der atopischen Dermatitis. Dies erklärt, warum histopathologische Diagnostik kaum wegweisend ist.

## **Differentialdiagnosen**

Klinische Differentialdiagnosen zum Netherton Syndrom sind atopische Dermatitis, Psoriasis, kongenitale ichthyosiforme Erythrodermie und Morbus Leiner (schwere seborrhoische Dermatitis).

### 1.3.3 LEKTI

LEKTI ist ein aus 1064 Aminosäuren aufgebauter Serin-Proteinase-Inhibitor und besteht aus 15 inhibitorischen Domänen (Abb. 1.5). Zwei von diesen Domänen zeigen typische Kazal-Typ Bindungen mit 6 Cysteinresten, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Kazal-Typ Inhibitoren weisen 1-5/2-4/3-6 Disulfidverbindungen auf. Die restlichen 13 LEKTI Domänen haben Kazal-ähnliche Bindungen, bestehend aus vier Cysteinen mit 1-4/2-3 Disulfidbrücken (Mägert *et al.*, 1999).

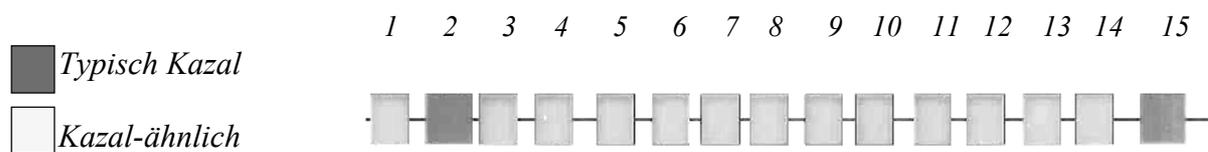


Abb. 1.5: Aufbau des LEKTI-Proteins aus 15 Domänen

LEKTI wurde bislang unter anderem in der Mundschleimhaut, im Ösophagus, in den Tonsillen, im Thymus, in den Glandulae parathyroidea, in den Bartholin'schen Drüsen der Vagina, im Ektozervix des Uterus und in der Epidermis nachgewiesen (Mägert *et al.*, 2002). In der Epidermis findet sich LEKTI vor allem im oberen Stratum spinosum, im Stratum granulosum sowie in Haarfollikeln und Talgdrüsen (Komatsu *et al.*, 2002).

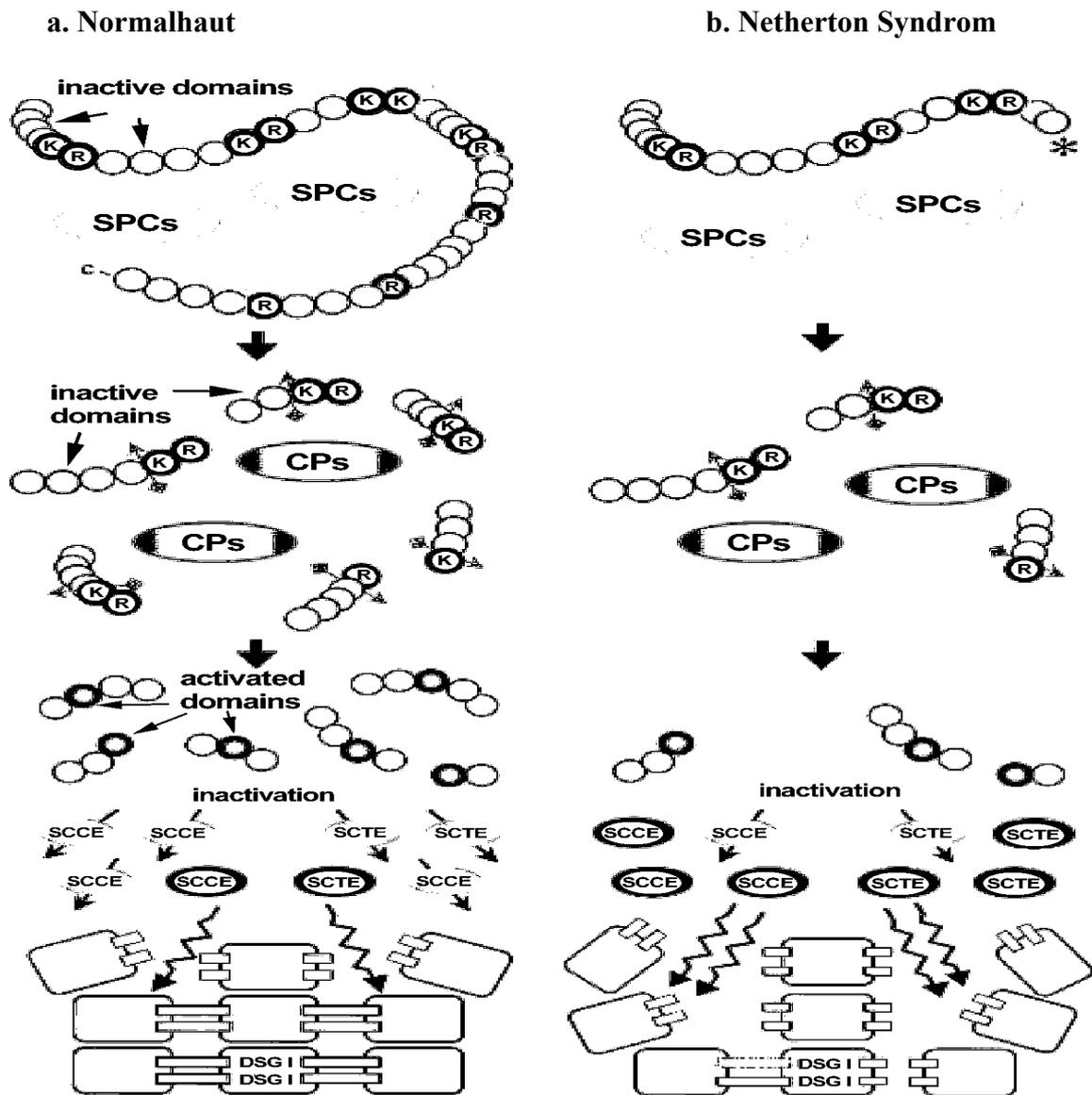
Das vollständige LEKTI-Protein wird wahrscheinlich von Subtilisin-ähnlichen Proprotein-Konvertasen, unter anderem von Furin, in der Epidermis gespalten und in mehrere aktive inhibitorische Domänen umgewandelt (Komatsu *et al.*, 2002). Die biologischen Funktionen von LEKTI sind noch nicht restlos aufgeklärt. Eine signifikante, nicht-kompetitive Hemmung der Serin-Proteinasen Trypsin, Plasmin, Subtilisin A, Kathepsin G und humaner Neutrophilen-Elastase wurde nachgewiesen (Mitsudo *et al.*, 2003). Da Domäne 15 dem Leech-derived tryptase inhibitor ähnelt, ist auch eine Tryptase-hemmende Funktion von LEKTI vorstellbar. Dies konnte bislang aber noch nicht nachgewiesen werden (Mägert *et al.*, 2002).

Die ausgeprägte Expression von LEKTI in Schleimhäuten und im Thymus lässt eine mögliche Rolle von LEKTI in Wachstum und Differenzierung von T-Lymphozyten vermuten, eventuell über eine Regulierung der Apoptose durch Hemmung von Granzymen (Mägert *et al.*, 2002).

Walley und Mitarbeiter berichteten 2001, dass bestimmte Polymorphismen im SPINK5-Gen mit Atopie, Asthma und Ekzemen assoziiert sind (Walley *et al.*, 2001). Ebenso stellten Kabesch et al. 2003 Assoziationen zwischen SPINK5-Mutationen und Asthma in einer großen Gruppe deutscher Kinder fest (Kabesch *et al.*, 2003). Da Tryptase eine Rolle als Asthmamediator spielt, könnte die mögliche Funktion von LEKTI als Tryptase-Inhibitor hier von Relevanz sein (Mägert *et al.*, 2002). Darüber hinaus enthalten viele Allergene, wie zum Beispiel der Kot der Hausstaubmilben und Pollen, Serin-Proteasen; der LEKTI-Mangel könnte über eine verminderte Hemmung dieser Proteasen die Hyperreagibilität beim Netherton Syndrom erklären (Bitoun *et al.*, 2003). Als Proteinase-Inhibitor könnte LEKTI auch antimikrobielle Protektion durch Hemmung von mikrobiellen Proteinase vermitteln (Mägert *et al.*, 2002).

Die Bedeutung von LEKTI in der gestörten Verhornung und in der entzündlich veränderten Haut beim Netherton Syndrom lässt sich unter anderem auch über eine vermehrte Aktivierung des Proteinase-aktivierten-Rezeptors 2 (PAR-2) erklären. PAR-2 ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, der von Trypsin, Thrombin, Tryptase und Kathepsin G aktiviert wird. PAR-2 spielt eine Rolle in protektiven und proinflammatorischen Prozessen (Dery *et al.*, 1998). Zudem hemmen PAR-2 Agonisten Keratinozytenwachstum und -differenzierung (Derian *et al.*, 1997). Diese Tatsache deutet wieder auf die Tryptase-inhibierende Funktion von LEKTI hin (Mägert *et al.*, 2002).

Ein neueres Modell zur Pathogenese der epidermalen Veränderungen beim Netherton Syndrom wurde 2002 von Komatsu et al. vorgestellt. Die Lokalisation von LEKTI in der oberen Epidermis und die Tatsache, dass bei Netherton Patienten eine erhöhte tryptische Aktivität in der Epidermis festgestellt wurde, weist auf eine mögliche Funktion von LEKTI als Inhibitor von Stratum corneum chymotryptischem Enzym (SCCE) und von Stratum corneum tryptischem Enzym (SCTE) hin. Diese beiden Enzyme spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle im Rahmen der Desquamation (Ekholm *et al.*, 2000), möglicherweise über eine durch Degradation von Desmoglein 1 vermittelte Auflösung von Zelladhäsionen (Suzuki *et al.*, 1996). Ein LEKTI-Mangel kann über eine erhöhte Aktivität von SCCE und SCTE zu einer überschießenden Abschilferung von Korneozyten führen (Abb. 1.6) (Komatsu *et al.*, 2002).



(aus: Komatsu et al., 2002)

Abb. 1.6: LEKTI-Mangel führt zu unzureichender Inaktivierung von Stratum corneum tryptischem Enzym und Stratum corneum chymotryptischem Enzym

- a. In Normalhaut wird der LEKTI-Vorläufer durch Subtilisin-ähnliche Proprotein Konvertasen (SPCs) gespalten, die gespaltenen Peptide werden von Carboxypeptidasen (CPs) prozessiert und inhibieren dann Serin-Proteasen des Stratum corneum (z.B. SCCE und SCTE).
- b. Beim Netherton Syndrom führen Mutationen im SPINK5-Gen zur Synthese eines verkürzten Vorläuferproteins mit weniger inhibitorischen Domänen. Als Folge davon kommt es zu einer unzureichenden Hemmung der Serin-Proteasen des Stratum corneum, diese bauen interzelluläres Desmoglein 1 (DSG 1) ab und bewirken somit eine verstärkte Abschuppung der Korneozyten.

## 1.4 Psoriasis

Die Psoriasis (Schuppenflechte) ist eine häufige und weltweit vorkommende erbliche Dispositionskrankheit der Haut. Die Prävalenz in der kaukasischen Bevölkerung beträgt ca. 2%. Der Inzidenzgipfel der Erstmanifestation liegt in der 2. und 3. Lebensdekade. Männer sind etwas häufiger betroffen als Frauen.

Neben (auto-)immunologischen Entzündungsprozessen spielt die epidermale Hyperproliferation eine wichtige Rolle. Die Erkrankung kann episodisch-rezidivierend oder chronisch-stationär verlaufen. Man unterscheidet drei Psoriasis-Formen:

1. Psoriasis vulgaris (ca. 90% der Psoriatiker)
2. Psoriasis Arthritis (ca. 10% der Psoriatiker)
3. Psoriasis pustulosa (ca. 2,5% der Psoriatiker)

Zwischen diesen Formen bestehen erhebliche Unterschiede, sowohl in der genetischen Grundlage als auch in der klinischen Manifestation. Für die immunhistochemischen Versuche dieser Arbeit wurden ausschließlich Hautproben von Patienten mit Psoriasis vulgaris verwendet. Aus diesem Grund beschränkt sich die folgende Erläuterung auf diese Psoriasis-Form.

### 1.4.1 Psoriasis vulgaris

Die Psoriasis vulgaris wird in zwei Typen unterteilt:

- Typ 1 (60-70% der Betroffenen) umfasst schwerere Erkrankungsfälle mit frühem Manifestationsalter vor dem 40. Lebensjahr und hoher familiärer Belastung. Es besteht eine starke Assoziation zu HLA-Cw6 und HLA-Dr7 und eine weniger deutliche Assoziation mit HLA-B13, -B17 und -Bw57 sowie mit dem MHC-1 Haplotyp MICA.
- Typ 2 (30-40% der Betroffenen) umfasst leichtere Fälle mit späterem Manifestationsalter nach dem 40. Lebensjahr. Es besteht kaum familiäre Häufung und nur geringe HLA-Assoziation (Henseler und Christophers, 1985).

## **Klinisches Bild**

Die typische Effloreszenz der Psoriasis ist ein runder, scharf begrenzter, ziegelroter Herd mit silbrig-weißer (asbestfarbener) Schuppung auf infiltriertem Grund. Die Läsion schmerzt nicht, verursacht aber bei einigen Patienten Juckreiz. Die groblammellären Schuppen haften locker und lassen sich als Ganzes abheben (Kerzentropfphänomen). Nach Ablösung der Schuppen liegt ein dünnes, glänzendes Häutchen auf dem Herd auf (Phänomen des letzten Häutchens), entfernt man diese letzte Epidermisschicht kommt es zu einer punktförmigen Blutung. Dieses „Phänomen des blutigen Taus“ oder Auspitz-Phänomen ist ein Zeichen der Papillomatose und erklärt sich durch eine Verletzung der oberflächlich in den aufgeworfenen Papillenspitzen gelegenen Gefäße der Dermis (Fritsch, 2003). Ebenfalls charakteristisch für die Psoriasis ist das Köbner-Phänomen (isomorpher Reizeffekt). Dies beschreibt die Beobachtung, dass exogene Irritationen mit einigen Tagen Latenz an genau der Stelle des Reizes zu psoriatischen Herden führen können (Boyd und Neldner, 1990).

Die Psoriasis-Morphe wandelt sich häufig im Verlauf eines Erkrankungsschubs. Im akuten Schub sind die Läsionen punktförmig (Psoriasis punctata), vergrößern sich dann zu mehreren Zentimetern großen, unregelmäßigen Herden (Psoriasis guttata, nummularis) und konfluieren teilweise zu großen, polyzyklischen Plaques (Psoriasis geographica/Plaque Psoriasis). Seltener sind ringförmige (anuläre) oder bogenförmige (gyrierte) Läsionen. Im Extremfall kommt es zur psoriatischen Erythrodermie. Nach Abheilung bleibt an der Stelle der Läsion ein hypopigmentierter Fleck, das psoriatische Leukoderm, der nach einigen Wochen repigmentiert. Die psoriatischen Herde sind häufig symmetrisch an den Prädilektionsstellen, das heißt an den Streckseiten der Extremitäten, sakral und am Kapillitium, angeordnet. Je nach Verteilungsmuster der Hautläsionen werden weitere klinische Varianten unterschieden:

- Eruptive Psoriasis („Guttata“-Form): im akuten Schub, an Rumpf und proximalen Extremitäten lokalisiert, assoziiert mit Fokalinfekten.
- Plaque-Typ-Psoriasis: chronisch-stabil, häufigster Typ
- Psoriasis vom seborrhoischen Typ: exanthematisch an Rumpf und Kapillitium, wenig Infiltration, geringe Schuppung, häufig bei Kindern
- Psoriasis inversa: Befall der Intertrigines, Handflächen und Fußsohlen, typische Prädilektionsstellen frei
- Psoriasis capitis: bei 40% der Betroffenen ist die Kopfhaut involviert
- Erythrodermische Psoriasis: Befall des gesamten Integuments, vor allem Rötung, weniger Schuppung, potentiell letal wegen starker kardialer Belastung

Häufig sind bei der Psoriasis auch die Nägel betroffen. Typische Nagelveränderungen sind Tüpfelnägel, umschriebene Onycholysen durch subunguale Hyperkeratosen und Ölflecken (Fritsch, 2003).

Die Psoriasis ist eine chronische Erkrankung mit meist schubartigem Verlauf. Die Krankheit ist genetisch verankert, der Phänotyp und die Manifestation sind jedoch von exogenen Faktoren stark beeinflusst. Oft geht der Erstmanifestation als Psoriasis guttata eine Streptokokken-Infektion voraus (Barker, 1991). Verletzungen und Entzündungen der Haut können ebenso wie bestimmte Medikamente (Betarezeptorblocker, Chloroquin, Interferon  $\alpha$  und  $\gamma$ , Lithium) einen Psoriasis Schub induzieren. Viele Patienten berichten von einer Besserung der Erkrankung im Sommer, ausgelöst durch UV-Licht. Eine positive Assoziation vom Auftreten psoriatischer Schübe und Stress wird beschrieben (Gaston *et al.*, 1987).

### **Ätiologie und Pathogenese**

Ätiologie und Pathogenese der Psoriasis sind bislang nur teilweise aufgeklärt. Die Erkrankung ist an eine vererbte Disposition gebunden, mehrere Suszeptibilitätsgene wurden beschrieben (PSOR 1-8). Es handelt sich um eine polygene und zugleich heterogene Krankheit (Lee *et al.*, 2000). Der Vererbungsmodus ist komplex; vorstellbar ist, dass bestimmte Loci dominant und andere Loci rezessiv wirken (Swanbeck *et al.*, 1994; Bowcock und Cookson, 2004). Das Erkrankungsrisiko beträgt 20% wenn ein Elternteil betroffen ist und bis zu 75% bei Erkrankung beider Eltern. Ein paternaler Effekt wurde 1992 von Traupe und Mitarbeitern festgestellt (Traupe *et al.*, 1992).

Bisherige immundermatologische Forschungsergebnisse weisen auf eine von Th1-Zellen dominierte Autoimmundermatose hin, die von epidermaler Hyperproliferation und Differenzierungsstörungen begleitet ist. Dies ist gegensätzlich zur Pathogenese allergischer Erkrankungen, die vor allem Th2-vermittelt sind (siehe Kapitel 1.5 Atopische Dermatitis). Zytokine und einige weitere Mediatoren spielen pathogenetisch eine wichtige Rolle. Im Zentrum des Geschehens stehen aktivierte CD4<sup>+</sup>-Zellen vom Th1-Typ, die IL-2 (Interleukin 2) -Rezeptoren exprimieren. Diese Zellen produzieren IL-2 (Interleukin 2), IFN- $\gamma$  (Interferon  $\gamma$ ) und TNF- $\alpha$  (Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$ ) und induzieren zusammen mit dendritischen Zellen (DC) CD8<sup>+</sup>-Zellen (Ortonne, 1999; Nickoloff, 1999). Die aktivierten T-Zellen stimulieren die Epidermis zur Expression von HLA-Klasse II, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) und  $\beta$ -Integrinen. Zudem sezernieren die stimulierten Keratinozyten proinflammatorische Zytokine (IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 und IL-20), IFN- $\gamma$ , TGF- $\alpha$  (Transforming growth factor  $\alpha$ ) und VEGF/VPF (vascular endothelial growth

factor/vascular permeability factor). Diese Mediatoren verstärken die Entzündungsreaktion. Durch Aktivierung der dermalen Endothelzellen mit Weitstellung der Gefäße und Neovaskularisation kommt es zum Einströmen von Neutrophilen und Makrophagen sowie von CLA (cutaneous lymphocyte antigen)-tragenden Memory-T-Zellen. Die Chemoattraktion neutrophiler Leukozyten führt zu deren Aggregation in der Epidermis und im Stratum corneum (Munro-Mikroabszesse). Die Anzahl von Mastzellen und von dermalen antigenpräsentierenden Zellen ist erhöht (Fritsch, 2003).

In neueren Studien wurde festgestellt, dass die Lymphozyten bei Psoriasis vermehrt das antiapoptotische Protein bcl-2 exprimieren (Yildiz *et al.*, 2003). Die dadurch vermittelte Apoptose-Resistenz autoreaktiver T-Lymphozyten kann mit verantwortlich für die Chronizität der Erkrankung sein.

Der epidermale Turnover ist bei Psoriasis gegenüber der Normalhaut um das 40-fache gesteigert. Es kommt zu gesteigerter Mitosetätigkeit (auch suprabasal), Verkürzung des Zellzyklus und Unterdrückung der Apoptose. Als Folge entsteht eine Akanthose und Papillomatose der Epidermis, die Zellen zeigen eine überstürzte und inkomplette Differenzierung. Eine Hauptrolle in der Hyperproliferation spielt die Interaktion zwischen T-Lymphozyten und Keratinozyten über Zytokine. IL-1, -6, -8, TNF- $\alpha$  und TGF- $\alpha$  stimulieren die Keratinozytenproliferation, teilweise zusammen mit GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) (Fritsch, 2003). Eventuell verursachen aktivierte T-Zellen durch eine abnormale Antigenexpression auch direkt eine gesteigerte Mitosetätigkeit der Basalzellen (Valdimarsson *et al.*, 1986).

Der ursächliche Triggerfaktor (Autoantigen) für die Aktivierung der T-Zellen ist bislang noch nicht identifiziert worden, möglicherweise existiert ein Streptokokken-Superantigen für die polyklonale T-Zell Vermehrung und Aktivierung. Die auf diese Weise aktivierten T-Zellen entwickeln eine Spezifität für M-Proteine von Streptokokken, die wiederum mit epidermalen Keratinen kreuzreagieren. Auf diese Weise könnte die chronische Inflammation bei Psoriasis aufrecht gehalten werden (Valdimarsson *et al.*, 1995 und 1997).

Gudjonsson *et al.* schlugen 2004 ein immunologisches Szenario vor, in dem CD4<sup>+</sup>-T-Zellen von dendritischen Zellen präsentierte Streptokokken- und Keratinantigene erkennen, an diese über CD40-Rezeptoren binden und dabei die dendritischen Zellen aktivieren. Die aktivierten dendritischen Zellen aktivieren nun ihrerseits CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Die CD8<sup>+</sup>-T-Zellen erkennen daraufhin die von HLA-Klasse I Molekülen auf dendritischen Zellen präsentierten Antigene. Darüber hinaus können auf diese Weise aktivierte CD8<sup>+</sup>-Zellen die an HLA-Cw-0602 gebundenen Autoantigene auf den Keratinozyten erkennen und mit diesen

kreuzreagieren. Gemäß dieser Hypothese induzieren die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen die Psoriasis, während autoreaktive CD8<sup>+</sup>-T-Zellen die wichtigsten Effektorzellen sind. Zudem vermitteln CD8<sup>+</sup>-T-Zellen die für Psoriasis typische Th1-Polarisation (Gudjonsson *et al.*, 2004).

Eine interessante Feststellung ist, dass bei 16% der Psoriasispatienten Gliadinantikörper im Blut nachgewiesen werden können. Bei diesen Patienten führt eine Gluten-freie Diät zu einer deutlichen Besserung des Hautzustandes. Die Ursache für diesen Effekt ist noch nicht bekannt. Möglicherweise besteht eine Kreuzreaktivität gegen ein, in der Darmschleimhaut und in der Haut vorhandenes, an Gluten gebundenes Antigen (Michaelsson *et al.*, 2000).

Alternative Modelle betrachten die Pathogenese der Psoriasis weniger als Störung in der erworbenen Immunabwehr, sondern als Dysregulation des angeborenen Immunsystems und umgehen damit die Frage nach dem vermeintlichen Autoantigen. Natural-killer-cells (NK-Zellen) sollen über bestimmte Rezeptoren HLA-I-Moleküle auf Keratinozyten erkennen können, an diese binden und durch diese Liganden/Rezeptorbeziehungen aktiviert werden (Nickoloff, 1999). Dadurch kann es zu einer erhöhten IFN- $\gamma$ -Produktion kommen und somit zu der für Psoriasis typischen Th1-Antwort. Dieses Modell sieht den Primärdefekt also eher in den Keratinozyten als im Entzündungsgeschehen. Unterstützt wird dieses Konzept durch die Feststellung, dass Keratinozyten aus psoriatischen Läsionen resistenter gegenüber Apoptose sind als Normalhaut-Keratinozyten (Wrone-Smith *et al.*, 1997). Ursächlich für die verminderte Apoptose kann aber auch eine anti-apoptotische Wirkung von den vermehrt exprimierten Zytokinen IFN- $\gamma$  und IL-15 sein (Quin *et al.*, 1999; Ruckert *et al.*, 2000; Gudjonsson *et al.*, 2004). Die Apoptose-Resistenz betrifft vor allem Zellen im Stratum basale (Laport *et al.*, 1999), in der suprabasalen Epidermis scheint die Apoptoserate erhöht zu sein, möglicherweise um die Hyperproliferation in basalen Schichten zu kompensieren (Bianchi *et al.*, 1994). Carroll und Mitarbeiter zeigten 1995, dass auch eine gestörte Integrin-Expression in der Epidermis für eine aberrante epidermale Proliferation und Differenzierung verantwortlich gemacht werden kann. Das Entzündungsgeschehen tritt dann sekundär in Erscheinung (Carroll *et al.*, 1995).

Bislang ist die Frage, ob die Grundstörung in der Pathogenese der Psoriasis in den Keratinozyten oder im Entzündungsgeschehen verankert ist noch nicht entgültig geklärt. Sehr wahrscheinlich ist, dass Suszeptilitätsfaktoren der Keratinozyten eine Voraussetzung sind um zusammen mit einer fehlgeleiteten Immunantwort der T-Zellen die Psoriasis auszulösen.

## **Klinische Diagnostik**

Die Diagnose Psoriasis vulgaris wird im allgemeinen klinisch gestellt, Biopsien sind selten notwendig. Das Labor ist meist unauffällig, im akuten Schub sind Entzündungsmarker wie die Blutsenkung und die Akutphasenproteine im Serum, sowie die Neopterinpiegel (als Zeichen der Immunaktivierung in Serum und Harn) erhöht (Fritsch, 2003). In differentialdiagnostisch schwierigen Fällen ist die HLA-Typisierung von klinischer Relevanz.

## **Histologie**

Histologisch zeichnet sich die Plaque-Psoriasis durch dilatierte und irregulär-geschlungene Kapillaren im Stratum papillare aus. Die papilläre Dermis ist ödematös verändert und enthält perivaskuläre Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten (CD8+ > CD4+), Monozyten und Neutrophilen. Letztere bilden diagnostisch wichtige, sterile Munro-Mikroabszesse im Stratum granulosum und im Stratum corneum. Die epidermale Hyperplasie äußert sich in zahlreichen basalen und suprabasalen Mitosen und einer Verdickung des Stratum spinosum (Akanthose). Das Stratum granulosum ist verschmälert oder fehlt; das Stratum corneum ist parakeratotisch. Die obersten Keratinozyten erscheinen abgeblasst (Altmann und Kamino, 1999). Der Zellzyklus der Keratinozyten ist auf circa 2 - 4 Tage verkürzt, Zellatypien werden nicht beobachtet.

## **Differentialdiagnosen**

Differentialdiagnostisch sind verschiedene Mykosen und Ekzeme, andere erythrosquamöse Dermatosen wie Pityriasis rosea und Pityriasis lichenoides, Lichen ruber, chronisch diskoider Lupus erythematoses, Frühsyphilis, Lymphome und Neoplasien der Haut auszuschließen (Fritsch, 2003).

## 1.5 Atopische Dermatitis

Die atopische Dermatitis ist eine komplexe, multifaktoriell bestimmte, chronisch entzündliche Hauterkrankung. In den Industrieländern sind ungefähr 10% aller Kinder und 3% der Erwachsenen betroffen (Novak und Bieber, 2004). 60% der Patienten entwickeln die Krankheit im ersten Lebensjahr, weitere 30% in den darauffolgenden vier Jahren (Fritsch, 2003). Im jungen Erwachsenenalter kommt es häufig zu einer spontanen Ausheilung.

### Klinisches Bild

Klinisch präsentiert sich die atopische Dermatitis als chronisch entzündliche Hauterkrankung mit stark juckenden, ekzematösen Hautveränderungen an typischer Lokalisation.

Diagnostische Hauptkriterien der Erkrankung sind Pruritus, Knie- und Ellenbeugenekzeme und Ekzeme an den Extremitätenstreckseiten sowie im Gesicht und der chronische Verlauf der Dermatitis. Zudem weisen die Patienten typische Atopiestigmata auf. Zu diesen zählen halonierete Periorbitalregion, Dennie-Morgan Lidfalte, Ichthyosis vulgaris, Hyperlinearität der Handlinien, Keratosis pilaris, Pityriasis alba, Mammillenekzem, Hertoghe-Zeichen (Ausdünnung der lateralen Augenbrauen), weißer Demographismus, Keratokonus und Katarakt. Weitere häufig assoziierte Merkmale sind eine positive Familienanamnese für Atopie, Xerosis, Hautinfektionen (insbesondere mit Staph. aureus), unspezifische Hand- und Fußekzeme, erhöhtes Serum-IgE und positiver Haut-Prick-Test (Hanifin, 1999; Leung und Bieber, 2003). Das klinische Spektrum der Erkrankung ist breitgefächert und reicht von Minimalvarianten, wie zum Beispiel der Pityriasis alba, zu schweren erythrodermischen Formen (Leung und Bieber, 2003).

Das klinische Bild der atopischen Dermatitis wandelt sich mit dem Lebensalter der Betroffenen. Das Säuglingsekzem beginnt meist vom 3. Lebensmonat an, hauptsächlich im Kopf-, Gesichts- und Halsbereich, mit exsudativen Ekzemen, die zu symmetrisch verkrusteten Herden führen (Milchschorf). Im Schulkindesalter tritt der exsudative Charakter in den Hintergrund, es kommt zum klassischen Ekzema flexuratum in den Ellenbeugen, Kniekehlen und Handgelenken. Die Haut ist trocken und vorherrschendes subjektives Gefühl ist der quälende Juckreiz. Die atopische Dermatitis kann bis in das Erwachsenenalter mit lichenifizierten, pruriginösen Hautarealen vor allem im Gesicht und an den Beugeseiten persistieren (Fritsch, 2003). Die Erstmanifestation beim Erwachsenen äußert sich oft als dyshidrosiformes Handekzem oder als „head and neck“-Dermatitis (Novak, Bieber, 2004).

## **Pathogenese**

Seit den Arbeiten von Wüthrich in den 1980-er Jahren unterscheidet man zwischen einer intrinsischen, ohne Sensibilisierungen auf Aero- oder Nahrungsmittelallergene einhergehende Form der atopischen Dermatitis (ca. 20-30% der Patienten) und einer extrinsischen Form mit Allergien und Sensibilisierungen (70-80% der Patienten) (Hanifin, 1999). Die intrinsische Variante der atopischen Dermatitis stellt möglicherweise eine ursprüngliche Form der Erkrankung dar, die sich bei 70-80% der Patienten im Laufe von 5-10 Jahren in Abhängigkeit von bestimmten Genkonstellationen und Umwelteinflüssen in die extrinsische Variante wandelt (Novak und Bieber, 2004).

Ein Zusammenspiel zwischen genetischen Faktoren, Umwelteinflüssen, pharmakologischen Besonderheiten und immunologischer Dysregulation erklärt die Pathogenese der atopischen Dermatitis (Leung und Bieber, 2003).

Eine genetische Prädisposition für atopische Dermatitis gilt als gesichert, da zwei Drittel der Erkrankten eine atopische Familienanamnese aufweisen und eine atopische Affektion beider Elternteile ein 75% Risiko für atopische Dermatitis beim Kind in sich birgt (Fritsch, 2003). Ein starker maternaler Effekt wurde beschrieben (Moffatt und Cookson, 1998). Die Hinweise auf einen großen Einfluss erblicher Faktoren haben zu umfangreichen genetischen Studien geführt. Ein Hauptlocus für die Erkrankung wie bei der Psoriasis ist jedoch bislang noch nicht identifiziert worden. Es wurden aber mehrere Kandidatenloci für atopische Dermatitis nachgewiesen, unter anderem auch gemeinsame Genloci mit Psoriasis vulgaris auf Chromosom 1q21 (PSOR 4) und 17q25 (PSOR 2). Dies könnte eventuell ein Hinweis auf eine gemeinsame genetische Prädisposition für chronisch entzündliche Hauterkrankungen sein (Novak, Bieber, 2004). Zudem fanden sich Assoziationen mit Polymorphismen des hochaffinen IgE-Rezeptors, FcεRI, vor allem der β-Kette (Chromosom 11q13), der Interleukine 4 und 13 (Chromosom 5q23-31) sowie deren Rezeptoren (Chromosom 16p12). Diese verschiedenen genetischen Faktoren könnten so zusammenspielen, dass das Immunsystem zu einer gewebsschädigenden Antwort auf normalerweise harmlose Moleküle wie Pollen, Kot von Hausstaubmilben, Nahrungsmittelbestandteile und körpereigene Proteine verleitet wird (Fritsch, 2003). Träger dieser Immunantwort sind vor allem Th2-Zellen. Diese Zellen sezernieren Zytokine, die die IgE-Produktion induzieren (IL-4, IL-13), die Reifung eosinophiler Granulozyten fördern (IL-5) und die Aktivierung von Th1-Zellen blockieren (IL-10). Th2-Zellen können darüber hinaus als Effektorzellen im Rahmen der zellulären Immunreaktion vom verzögerten Typ funktionieren (Fritsch, 2003).

Die Immunodysregulation mit akut verstärkter Th2-Antwort und verminderter Th1-Antwort wird teilweise durch die Hygiene-Hypothese erklärt. Diese Hypothese besagt, dass der rasante Inzidenzanstieg der atopischen Dermatitis in der westlichen Welt im Zusammenhang mit einem höheren Lebensstandard, verbesserten hygienischen Bedingungen und steigendem Einsatz von Antibiotika und Impfstrategien steht. Ein weiterer Hauptfaktor ist die 1-2-Kind-Familie in Westeuropa, die Kindern weniger Möglichkeiten bietet sich gegenseitig mit Kinderkrankheiten, wie z.B. Pertussis, anzustecken. Bakterienbestandteile werden normalerweise über verschiedene Rezeptoren des angeborenen Immunsystems angeboten und stimulieren Immunantworten, die zu hoher Produktion von Th1-Zytokinen wie Interferon- $\gamma$  führen. Bei einer verminderten Exposition gegenüber bakteriellen Antigenen in Kombination mit einer reduzierten Fähigkeit von Atopikern, die Th1-vermittelten Signale über die entsprechenden Rezeptoren aufzunehmen, kommt es zu einer Abnahme des protektiven Effekts der Th1-Antwort und vermehrten Th2-Reaktionen (Novak und Bieber, 2004). In diesem Kontext spielt auch eine Veränderung der Darmflora mit Verschwinden protektiv wirksamer Bakterienstämme eine Rolle (Kalliomaki *et al.*, 2001).

Weitere immunopathologische Mechanismen in der Entwicklung von atopischer Dermatitis werden im Folgenden erwähnt.

Die Hautbarriere ist aufgrund einer veränderten Zusammensetzung von Ceramiden, zellulären Matrixproteinen und Enzymen gestört. Das führt zu Xerosis, gesteigertem transepidermale Wasserverlust und einem alkalischeren pH-Wert (Novak, Bieber, 2000). Ursächlich könnte ein intrinsischer Defekt der Keratinozyten sein, der mit einer vermehrten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine einhergeht (Girolomoni und Pastore, 2001).

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis wurden dendritische Zellen (Langerhanszellen, inflammatorische dendritische epidermale Zellen) mit hochaffinem IgE-Rezeptor (Fc $\epsilon$ RI) nachgewiesen. Allergene, die aufgrund der gestörten Hautbarriere vermehrt in die Epidermis eindringen, könnten über IgE-tragende Moleküle aufgenommen werden und nach Antigenprozessierung spezifischen T-Zellen präsentiert werden. Dabei käme es zu einer Steigerung der Entzündungsreaktion und zur Auswanderung der dendritischen Zellen in die regionären Lymphknoten (siehe Abb.1.7). Dieses Modell kann die scheinbar widersprüchliche Situation von Atopikern erklären, die überwiegend an IgE-vermittelten allergischen Reaktionen wie der allergischen Rhinitis aber auch an ekzematösen, zellulär vermittelten chronisch entzündlichen Reaktionen der Haut leiden (Novak und Bieber, 2004).

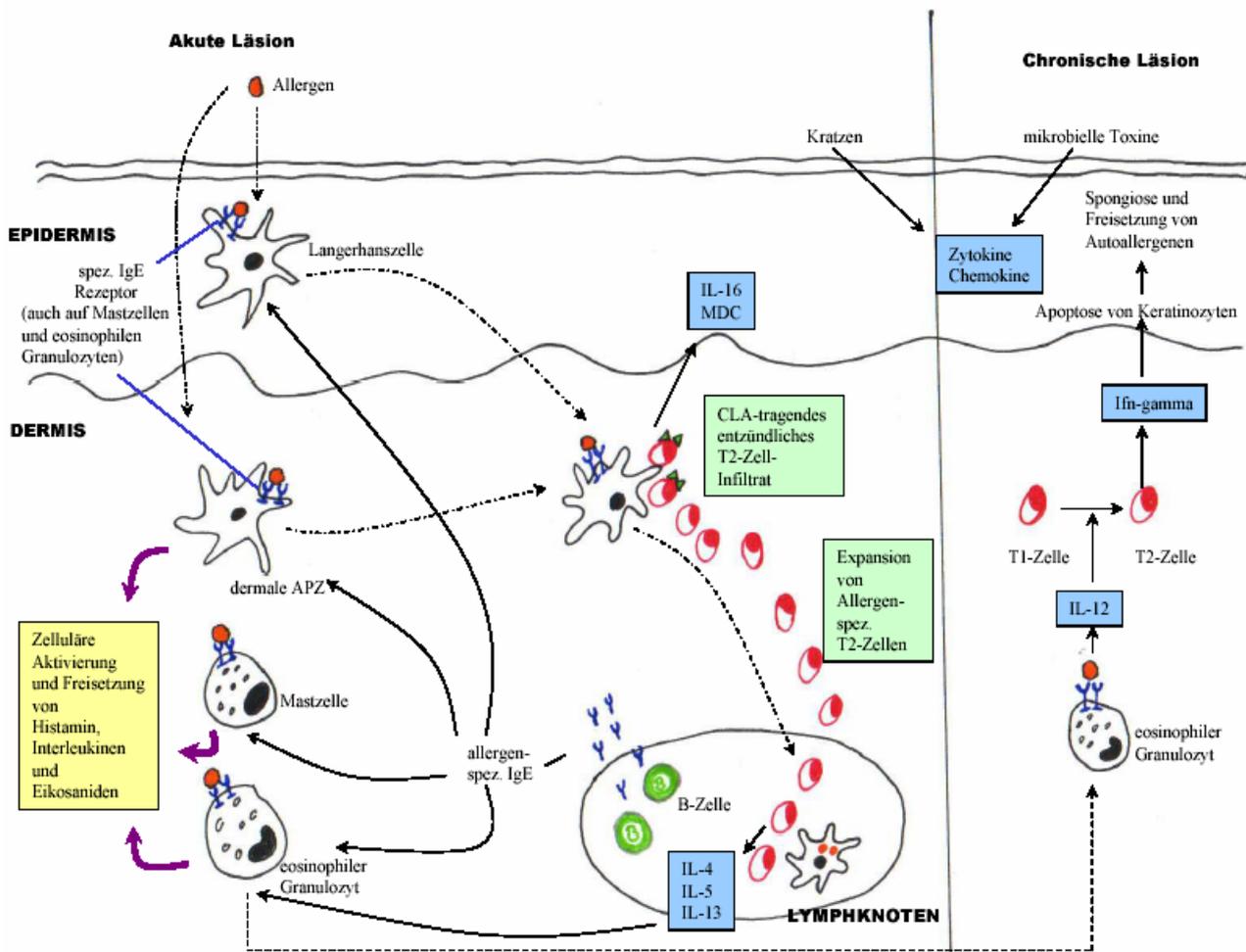
In Hautläsionen von atopischer Dermatitis finden sich antigenspezifische, kutanes T-Zell Antigen-tragende, aktivierte T-Zellen, die große Mengen der Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13

produzieren. Diese spielen vor allem bei der Entstehung der Entzündungsreaktion in der Initialphase der atopischen Dermatitis eine Rolle. In chronischen Läsionen kommt es zu einer Umwandlung der Th2-Antwort in eine Immunantwort vom Th1-Typ, bei der Interferonproduzierende Zellen überwiegen. Dieser „Th2-Th1-Switch“ wird wahrscheinlich durch die Interleukin-12-Produktion einwandernder Eosinophiler und inflammatorischer dendritischer epidermaler Zellen bewirkt (Leung und Bieber, 2003).

Aktivierte T-Zellen induzieren über Interferon- $\gamma$ -vermittelte Hochregulation des Fas-Liganden die Apoptose von Keratinozyten. Die histologisch nachweisbare Spongiose ist durch dieses Phänomen zu erklären. Zudem werden durch den Zelltod der Keratinozyten potente Autoallergene freigesetzt (Leung und Bieber, 2003).

Als wichtige Triggerfaktoren für die Erkrankung sind Nahrungsmittelallergene, Aeroallergene, Autoallergene (HomS1, DFS 70) und Staphylococcus aureus Superantigene beschrieben (Leung und Bieber, 2003).

Nicht alle Merkmale der atopischen Dermatitis lassen sich durch die Immunodysregulation erklären, so wird zum Beispiel der weiße Dermographismus einer veränderten Reaktivität auf  $\beta$ -adrenerge und cholinerge Reize zugeschrieben. Neuropeptid-induzierte Freisetzung von Entzündungsmediatoren aus Eosinophilen und Mastzellen könnte ursächlich für den hohen Eruptionsdruck und den quälenden Juckreiz sein (Fritsch, 2003).



(modifiziert aus Fritsch, 2003 und Leung und Bieber, 2003)

Abb. 1.7: Immunpathologie der atopischen Dermatitis – Induktions- und Amplifikationswege der allergischen Entzündungsreaktion (Einzelheiten siehe Text)

APZ = antigenpräsentierende Zelle

IL = Interleukin

Ifn = Interferon

CLA = cutaneus lymphocyte antigen

MDC = macrophyte derived chemokine

## **Klinische Diagnostik**

Die Diagnose der atopischen Dermatitis wird im allgemeinen klinisch durch das Vorhandensein von drei der vier Hauptkriterien (Prurigo, Ekzem an typischer Lokalisation, chronischer oder rezidivierender Charakter der Erkrankung, positive Eigen- oder Familienanamnese für Atopie) und vier Nebenkriterien (siehe die zuvor genannten Atopiestigmata und assoziierten Merkmale) gestellt. Die ergänzende Labordiagnostik kann durch die Bestimmung von Serum-IgE und allergenspezifischem IgE, sowie durch den Prick-Test und den Atopie Patch-Test das Vorliegen von Sensibilisierungen nachweisen. Im akuten Schub ist serologisch eine Eosinophilie, eine verlängerte Überlebenszeit der Eosinophilen und eine Erhöhung des ECP (eosinophilic cationic protein) nachzuweisen. Weitere, nicht routinemäßig durchgeführte, Untersuchungen zeigen erhöhte Spiegel von IL-4, IL-5 und IL-13 und erniedrigte Spiegel von Interferon- $\gamma$ . Auch eine Reihe von chemotaktisch wirksamen Botenstoffen wie IL-16, MDC (macrophage derived chemokine), RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) sowie das lösliche CD30-Molekül sind als Zeichen der verstärkten Krankheitsaktivität im Blut nachweisbar (Novak und Bieber 2004).

## **Histologie**

Eine histologische Diagnostik der atopischen Dermatitis ist für die Klinik normalerweise nicht erforderlich. Der histologische Befund ist sehr unspezifisch. In akuten Läsionen finden sich Merkmale der irritativen Kontaktdermatitis: geringgradige Spongiose mit fokaler Parakeratose und oberflächlichem entzündlichem Infiltrat aus Lymphozyten und eosinophilen Granulozyten. Alte Läsionen zeigen Folgen des anhaltenden Kratzens und Reibens und ähneln histologisch dem Lichen simplex chronicus. Es finden sich Epidermishyperplasie, Hypergranulose, kompakte Orthokeratose, vergrößertes Kollagen in verlängerten epidermalen Papillen und ein leichtes superfizielles entzündliches Infiltrat (Kerl *et al.*, 2003).

## **Differentialdiagnosen**

Als Differentialdiagnosen der atopischen Dermatitis gelten: infektiöse Erkrankungen (Skabies, HIV-assoziierte Dermatosen, Dermatophyteninfektionen), seborrhoische Dermatitis, Kontaktekzem, nummuläres Ekzem, Psoriasis vulgaris und Ichthyosen. In einzelnen Fällen, vor allem in hohem Alter, kann die Abgrenzung zu malignen Erkrankungen (T-Zell-Lymphome, Abt-Letterer-Siwe-Erkrankung) und immunologischen Erkrankungen (Dermatitis herpetiformis, Pemphigus foliaceus, Graft-versus-host disease, Dermatomyositis) schwierig sein. Seltene Differentialdiagnosen sind Immun-Mangel-Syndrome (Wiskott-Aldrich-

Syndrom, kombinierte Immundefizienz, Hyper-IgE-Syndrom, DiGeorge-Syndrom) und metabolische Erkrankungen (Zinkmangel-Syndrom, Vitamin-B6-/Niacin-Mangel, Phenylketonurie). Auch kongenitale Erkrankungen wie das Netherton Syndrom können als Differentialdiagnosen in Frage kommen (Leung und Bieber, 2003).

## 1.6 Serin-Proteasen der Haut und ihre Inhibitoren

Das Leben von Säugetieren ist in großem Maße davon abhängig, dass im Eiweißstoffwechsel ein Gleichgewicht zwischen Synthese und Abbau besteht. Während die Eiweißsynthese intrazellulär unter der Kontrolle von DNA und mRNA stattfindet, wird der Eiweißabbau durch proteolytische Enzyme sehr differenziert gesteuert.

Beim Menschen werden vier Proteaseklassen unterschieden:

1. Cystein-Proteasen, u. a. Kathepsin B, H und L, sind lysosomale Enzyme die hauptsächlich der Bereitstellung von Aminosäuren zur Proteinsynthese dienen.
2. Metalloproteasen, u. a. Kollagenase und Gelatinase, werden stark von zweiwertigen Ionen wie Kalzium und Magnesium beeinflusst und haben eine regulative Funktion in der Verstoffwechslung extrazellulärer Proteine.
3. Aspartat-Proteasen können eine regulative Wirkung haben, z.B. Angiotensin Converting Enzyme, oder katabol wirken z.B. Pepsin.
4. Serin-Proteasen sind ebenfalls sowohl regulativ (Faktoren VIIa, IXa, Xa der Blutgerinnung) als auch katabol wirksam (die Pankreasenzyme Trypsin, Chymotrypsin und Elastase).

Das aktive Zentrum der Serin-Proteasen wird durch ein Histidin und ein Serin gebildet, die zwar in der Sequenz weit voneinander entfernt liegen aber durch die Faltung des Moleküls in räumliche Nähe rücken. Ein gemeinsames Kennzeichen aller Serin-Proteasen ist ihre Inaktivierung durch Diisopropylfluorophosphat (DFP), das mit dem Serin des aktiven Zentrums eine Verbindung eingeht.

Die in der Epidermis vorkommenden Breitspektrum-Serin-Proteasen - ebenso wie ihre Inhibitoren - stammen entweder aus den gewebsinfiltrierenden Granulozyten (humane Leukozytenelastase, Kathepsin G, Proteinase 3), bzw. Makrophagen (humane Leukozytenelastase, Kathepsin G) oder werden durch ortständige Zellen wie Keratinozyten (Stratum corneum chymotryptisches Enzym (SCCE), Stratum corneum tryptisches Enzym (SCTE)), bzw. durch dermale Mastzellen (Mastzellchymase) freigesetzt. Darüber hinaus können - z.B. bei Verletzungen - aus dem Serum stammende Proenzyme durch Serin-Proteasen aktiviert werden (Plasminogen zu Plasmin).

Die Serin-Proteasen der phagozytierenden Zellen - humane Leukozytenelastase, Kathepsin G und Proteinase 3 - sind mit denen des Pankreas vergleichbar. Sie werden als inaktive Proenzyme gebildet, in der Zelle aktiviert und dann in azurophilen Granula

gespeichert. Die Hauptfunktion ist die Proteolyse phagozytierten Materials, unter bestimmten Bedingungen erfolgt aber auch eine Freisetzung in das Gewebe (Wiedow, 1995).

Die Vielzahl unlöslicher Substrate der Serin-Proteasen setzt voraus, dass die Aktivität dieser Enzyme gut reguliert werden kann. Dazu stehen bei Säugetieren unterschiedliche Klassen von Serin-Protease-Inhibitoren zur Verfügung: Einerseits die reversibel wirkenden, säurestabilen, peptidartigen Inhibitoren; zu dieser Gruppe gehören die beiden in der Epidermis vorkommenden Inhibitoren Antileukoproteinase (ALP) und Elafin/SKALP. Andererseits die irreversibel inhibierenden, proteinartigen Inhibitoren, die Serpine. Zudem ist vor wenigen Jahren das Protein LEKTI entdeckt worden, ein Serin-Protease-Inhibitor der aus verschiedenen peptidartigen inhibitorischen Domänen aufgebaut ist. Auf die Inhibitoren LEKTI, Elafin und auf eine Untergruppe der Serpine, die Ov-Serpine, wird in den Kapiteln 1.3.3, 1.7 und 1.8 – 1.8.1.3 genauer eingegangen.

Bei entzündlichen Hauterkrankungen, die mit Störungen des Zellkontaktes zwischen den Keratinozyten einhergehen, ist anzunehmen, dass proteolytische Phänomene an der Zerstörung der Zellkontakte beteiligt sind. Im Gegensatz dazu liegen angeborenen blasenbildenden Dermatosen meist Synthesestörungen der an den Zellkontakten beteiligten Proteine zugrunde. Für die proteolytischen Phänomene kommen in erster Linie Breitspektrum-Serin-Proteasen in Betracht, da sie fast alle unlöslichen Proteine der Gewebe verstoffwechseln können (Wiedow, 1995).

Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang die von der Arbeitsgruppe Egelrud et al. identifizierten Epidermis-spezifischen Serin-Proteasen SCCE (Stratum corneum chymotryptisches Enzym = Kallikrein 7) und SCTE (Stratum corneum tryptisches Enzym = Kallikrein 5) (Brattsand und Egelrud, 1999; Egelrud, 1993). Diese beiden Enzyme werden im Stratum granulosum und im Stratum corneum von Keratinozyten als inaktive Proenzyme produziert und in den extrazellulären Raum zwischen diesen beiden Schichten sezerniert (Sondell *et al.*, 1995). SCTE wird durch eine noch unbekannte Protease aktiviert und aktiviert seinerseits SCCE. Diese beiden Proteasen sind in der Lage wichtige Eiweiße der Corneodesmosomen (das sind Verbindungen zwischen den Korneozyten) wie Desmoglein 1 (DSG1), Desmocollin 1 (DSC1) und Corneodesmosin (CDSN) abzubauen. Dadurch werden die Zellkontakte zerstört und es kommt zur Abschuppung der Korneozyten (Caubet *et al.*, 2004). Darüber hinaus kann aktiviertes SCCE auch eine Rolle in entzündlichen Prozessen spielen, da es in der Lage ist Zytokin-Vorläufer wie Interleukin-1 $\beta$  zu aktivieren (Nylander Lundqvist *et al.*, 1997).

Antileukoproteinase ist ein potenter Inhibitor von SCCE. Auch Elafin hemmt SCCE, allerdings in einem schwächeren Ausmaß (Franzke *et al.*, 1996). Die Lokalisation von LEKTI lässt ebenfalls eine SCCE-antagonistische Funktion vermuten (Komatsu *et al.*, 2002). Dies ist bisher jedoch noch nicht bewiesen worden.

Caubet *et al.* schlugen 2004 ein Modell zur Regulation der Desquamation vor (Abb. 1.8), dass sowohl die Rolle von SCCE, SCTE und ihren Inhibitoren Antileukoproteinase (ALP), Elafin und LEKTI berücksichtigt, als auch zwei regulative epidermale Cystein-Protease-Inhibitoren, Cystatin M/E und Cystatin  $\alpha$ . Letzter sind von Bedeutung, da in neuerer Zeit auch verschiedenen Cystein-Proteasen wie Kathepsin L2 und Stratum corneum Kathepsin L-ähnliches Enzym sowie zwei Aspartat-Proteasen, Kathepsin D-ähnliches und Kathepsin E-ähnliches Enzym in der Epidermis nachgewiesen wurden und eine Funktion dieser Enzyme in den Prozessen der Abschuppung vermutet wird (Caubet *et al.*, 2004).

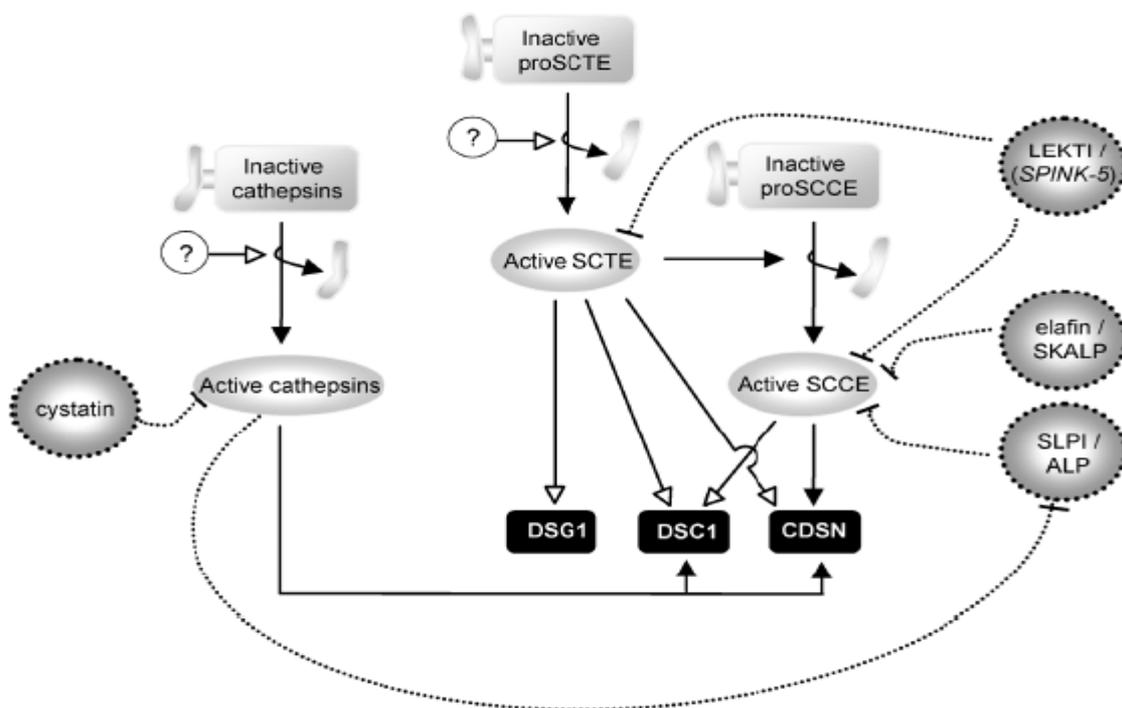


Abb. 1.8: Modell der Desquamation

(aus Caubet *et al.*, 2004)

Die aus inaktiven Vorstufen gebildeten Enzyme SCTE und SCCE, ebenso wie verschiedene Kathepsine, bauen extrazelluläre Proteine der Desmosomen (DSG1, DSC1 und CDSN) ab und spielen somit eine Rolle in der Desquamation. Dabei wird ihre Aktivität von Serin-Protease-Inhibitoren (LEKTI, Elafin und ALP) und inhibitorisch wirkenden Cystatinen reguliert. Weitere Details siehe Text.

Serin-Proteasen und ihre Inhibitoren spielen somit eine wichtige Rolle in den Prozessen der Abschuppung und Entzündung und sind aus diesem Grund wichtig für das Verständnis der Pathogenese entzündlicher und schuppender Hautkrankheiten.

## 1.7 Elafin

Unabhängig voneinander entdeckten 1990 die Arbeitsgruppen von Wiedow und Schalkwijk den Serin-Protease-Inhibitor Elafin/SKALP (skin-derived anti-leukoproteinase). Sallenave et al. isolierten ein Jahr später einen Elastase-spezifischen Inhibitor aus dem Sputum; es stellte sich heraus, dass dieser Inhibitor identisch mit Elafin/SKALP ist. 1997 erhielt er die systemische Bezeichnung Trappin 2. Elafin gehört zu der Trappin Familie (Trappin = **TR**ansglutaminase Substrat und **wAP**-Domäne enthaltene**IN**), einer Gruppe von Proteinen die Transglutaminase Substrat sind und eine WAP (whey acidic protein)-Domäne aufweisen. Diese Proteine werden im Gewebe eingefangen -„trapped“- und verankert und entfalten dort ihre Funktion. Die Trappine enthalten zwei funktionelle Domänen: eine N-terminale Transglutaminase-Substrat-Domäne, mit multiplen Hexapeptid-Wiederholungen der Konsensussequenz GQDPVK, und einen C-terminalen inhibitorischen Bereich mit acht über Disulfidbrücken verbundenen Cysteinresten, den 4-Disulfid-Kern (Abb. 1.9). Die Struktur des 4-Disulfid-Kerns wird auch als WAP-Motif bezeichnet und stabilisiert die inhibitorische Domäne. Die Transglutaminase-Substrat-Domäne enthält Glutamin- und Lysin-reiche Sequenzen, die durch Transglutaminasen zu N $\epsilon$ - $\gamma$ -Glutamyl-Lysin-Isopeptid-Querverbindungen vernetzt werden können. Die Anzahl der Wiederholungen dieser Sequenz variiert von Spezies zu Spezies, menschliches Elafin hat 5 Sequenzwiederholungen (Schalkwijk *et al.*, 1999).

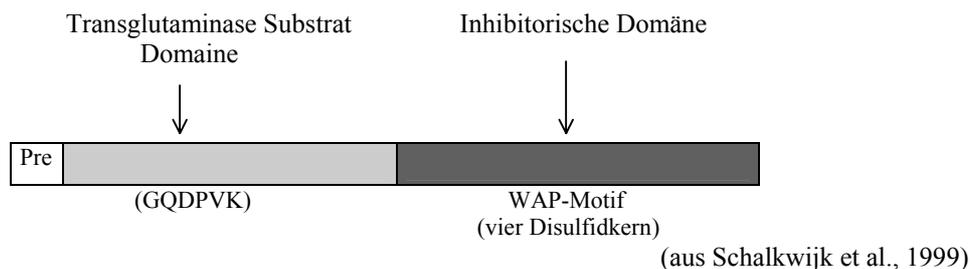


Abb. 1.9: Domain-Struktur des Trappin-Vorläufermoleküls

Das Elafin-Gen ist 2.3 kb groß, enthält 3 Exons und 2 Introns (Sallenave, 2002) und liegt auf Chromosom 20q12-13. Elafin wird als Vorläuferpeptid mit 117 Aminosäuren synthetisiert, 22 Aminosäure kodieren für das Signalpeptid. Die Existenz des Signalpeptids deutet darauf hin, dass Elafin sezerniert wird (Schalkwijk *et al.*, 1999).

Elafin ist in gesunder Epidermis nicht nachweisbar (Pol *et al.*, 2003), es findet sich aber in Mundschleimhaut, Ösophagus und Vagina (Pfundt *et al.*, 1996). Ebenso zeigt psoriatische

Haut und Haut mit dermaler Infiltration von Neutrophilen (Morbus Beçet, Sweet Syndrom, Pyoderma gangraenosum und kutane allergische Vaskulitis) in der immunhistochemischen Färbung ein deutliches Elafin-Signal in der sukornealen Dermis (Tanaka *et al.*, 2000).

Steinert und Marekov wiesen 1995 Querverbindungen zwischen Elafin und Lorikrin, beziehungsweise Zytokeratin-1, zwei Strukturproteinen des „cornified envelope“, nach (Steinert, Marekov, 1995). Aufgrund der Ko-Lokalisation von Elafin und Transglutaminase 1 in Plattenepithelien (Pfundt *et al.*, 1996), ist es wahrscheinlich, dass Elafin von Transglutaminase 1 in den „cornified cell envelope“ eingebaut und mit diesen Proteinen vernetzt wird. Da Elafin sezerniert wird, kann angenommen werden, dass der Einbau von außen erfolgt.

Das C-terminale Ende des Proteins wird im Stratum corneum von einer bislang unbekanntem Proteinase abgespalten, diffundiert frei im Gewebe und kann dort seine Anti-Proteinase-Aktivität entfalten. Es wird dann über Urin und Blut ausgeschieden (Schalkwijk *et al.*, 1999).

Der 4-Disulfid-Kern enthält das aktive inhibitorische Zentrum für die Hemmung von Serin-Proteinasen. Elafin hemmt vor allem menschliche Leukozyten-Elastase und menschliche Proteinase 3 - beide Proteinase werden von polymorphonukleären Leukozyten produziert (Pfundt *et al.*, 1996) -, *in vitro* konnte auch inhibitorische Aktivität gegen Stratum corneum chymotryptisches Enzym nachgewiesen werden (Schalkwijk *et al.*, 1999).

Zusätzlich zu der Proteinase-hemmenden Funktion hat Elafin Defensin-ähnliche Eigenschaften. *In vitro* wurde eine antimikrobielle Wirkung gegen Bakterien, Pilze und möglicherweise HIV nachgewiesen. *In vivo* wirkt Elafin antimikrobiell gegen *Pseudomonas aeruginosa* (Meyer-Hoffert *et al.*, 2003). Es reguliert auch Entzündungsmediatoren wie Metalloproteinase und TNF- $\alpha$  herab. Somit spielt Elafin eine Rolle in der natürlichen Immunität (Sallenave, 2002).

## 1.8 Serpine

Proteinase-Inhibitoren sind wichtige natürliche Werkzeuge, um die proteolytische Aktivität ihrer Zielproteinasen zu regulieren und um diese in Notfällen zu blockieren (Bode und Huber, 1991). Die meisten bislang bekannten Proteinase-Inhibitoren richten sich gegen Serin-Proteasen. Mindestens 20 strukturell verschiedene Gruppen von Inhibitoren der Serin-Proteasen wurden identifiziert; zu den bekanntesten gehören Kunitz-, Kazal-, und Leukoproteinase-Inhibitoren sowie die Serpine.

Anhand des Hemmmechanismus werden 3 Typen unterschieden:

- Kanonische Inhibitoren,
- nicht-kanonische Inhibitoren und
- Serpine

Kanonische Inhibitoren binden das Enzym an eine exponierte konvexe Bindungsschleife - „reactive site loop“ (RSL) - die zum aktiven Zentrum des Enzyms komplementär ist. Nicht-kanonische Inhibitoren binden mit ihrem N-terminalen Segment an das Enzym. Serpine reagieren mit ihren Zielproteasen ähnlich wie die kanonischen Inhibitoren durch eine exponierte Bindungsschleife. An dieser wird eine Peptidbindung durch die Zielprotease gespalten, es kommt zu einer Konformationsänderung des Serpins und zur Ausbildung eines stabilen Enzym-Inhibitor-Komplexes (Krowarsch *et al.*, 2003).

Inhibitorisch aktive Zentren von Serin-Protease-Inhibitoren sind nach der Nomenklatur von SCHECHTER und BERGER (1967) nummeriert: P-Reste in N-terminaler Richtung, P'-Reste in C-terminaler Richtung.

Serpine (Akronym für SERin Proteinase Inhibitoren) sind eine Gruppe von 350-500 Aminosäuren großen Proteinen, die bislang in allen Lebewesen außer in Bakterien beschrieben wurden. Beim Menschen erfüllen sie viele Funktionen, nicht alle davon sind ausschließlich an Proteinase-Inhibition gebunden:

- Zelldifferenzierung, Zellmigration
- Modulation von Entzündungen, B-Zell-Entwicklung, Aktivierung von Interleukin-Vorstufen, Schutz vor mikrobiellen und viralen Proteasen
- Apoptose-Regulation, Intrazelluläre Proteolyse
- Tumor Suppression, Angiogenese
- Veränderung der extrazellulären Matrix, Wundheilung

- Prohormon Konvertierung, Hormontransport
- Fibrinolyse, Blutgerinnung, Komplementkaskade

Serpine haben eine metastabile Konformation, mit einer erhaltenen Sekundärstruktur aus 3  $\beta$ -Faltblättern A, B und C und mindestens 7 (meist 9)  $\alpha$ -Helices A-G (H, I). Die „reactive site loop“ (RSL), die die spezifische Proteinaseerkennung ermöglicht, ist ein exponierter, flexibler Abschnitt von ca. 17 Aminosäureresten zwischen den  $\beta$ -Faltblättern A und C. Die Aminosäure an Position P1 spielt für die Spezifität des Serpins die wichtigste Rolle (Chipuk *et al.*, 2002). Die RSL wirkt als Pseudosubstrat und bindet die Proteinase. Diese spaltet eine Peptidbindung der RSL; dabei entsteht ein kovalent gebundenes Acyl-Enzym-Zwischenprodukt mit der Proteinase an Position Ser-195 des aktiven Zentrums. Diese Verbindung bewirkt eine Konformationsänderung des Serpins. Es kommt zu einer Verlagerung der RSL und des daran gebundenen aktiven Zentrums der Proteinase in das  $\beta$ -Faltblatt A. Das aktive Zentrum der Proteinase wird verdreht und das Enzym wird gehemmt (Silverman *et al.*, 2001). Dabei entsteht ein SDS-stabiler Serpin-Proteinase-Komplex (Wright und Scarsdale, 1995). Dieser Hemmmechanismus findet auch bei der Hemmung von Cystein-Proteinasen durch Serpine statt. Das Zwischenprodukt ist in dem Fall ein Thiolester (Silverman *et al.*, 2001). Eine weitere Möglichkeit eines Serpins mit einer Zielproteinase zu reagieren ist der Substratmechanismus: das Serpin wird von der Proteinase in seiner RSL gespalten, die Proteinase dissoziiert daraufhin vom Serpin und behält ihre proteolytische Aktivität. Der Inhibitor wird dabei inaktiviert. In beiden Fällen verändert das gespaltene Serpin seine Konformation zu einer thermodynamisch stabileren, relaxierten Form (Jensen *et al.*, 2000).

Für die Regulation der Serpinaktivität sind verschiedene Mechanismen von Bedeutung: Ein Hauptmechanismus der Regulation vieler Serpine besteht in der Notwendigkeit eines Co-Faktors, der die RSL freilegt oder stabilisiert und damit die Hemmfunktion des Serpins unterstützt. Ein Beispiel hierfür ist Antithrombin III, das nur in der Anwesenheit von Heparin mit Thrombin reagiert und dieses hemmt. Ein weiterer Mechanismus um die inhibitorische Funktion eines Serpins zu beeinflussen, ist die proteolytische Inaktivierung durch nicht-physiologische Zielproteinasen. Dazu gehören mikrobielle und menschliche neutrophile beziehungsweise fibroblastische Proteinase, die die RSL spalten und dabei das Serpin inaktivieren. Dies kann in manchen Fällen bis zu einer unkontrollierten Proteolyse im Gewebe führen. Bei einigen Serpinen führt die Oxidation der Aminosäure an Position P1 zu einem Verlust der inhibitorischen Funktion (Potempa *et al.*, 1994).

### 1.8.1 Ovalbumin Serpine

Die Familie der Ovalbumin Serpine (Ov-Serpine) besteht aus meist intrazellulären Proteinen, die Ähnlichkeiten in Aminosäuresequenz, Eiweißcharakteristika und Genaufbau zeigen. Das nicht-inhibitorische Hühner-Ovalbumin ist der Prototyp der Untergruppe der Ovalbumin Serpine (Remold-O'Donnell, 1993). Die Ähnlichkeit im Aminosäureaufbau zwischen den einzelnen Ov-Serpinen ist beträchtlich und beträgt 32-58% (Abts *et al.*, 1999).

Strukturell weisen die Ov-Serpine einige Besonderheiten auf: es fehlen die für andere Serpine üblichen N- und C-terminalen Extensionen; die Aminosäure in der vorletzten Position ist Serin und nicht, wie bei anderen Serpinen, Asparagin; zudem befindet sich statt Valin ein variabler Aminosäurerest in Position 388. Eine andere Charakteristikum der Ov-Serpine ist das Fehlen eines abspaltbaren, hydrophoben Signal-Peptids. Es scheint eine nicht abspaltbare, N-terminale, interne Signalsequenz zu geben. Dies ist von besonderem Interesse, da einige Ov-Serpine als dualistische Moleküle existieren, die entweder sezerniert werden oder zytoplasmatisch verbleiben (Remold-O'Donnell, 1993).

Bislang sequenzierte Ov-Serpine wie zum Beispiel Ovalbumin, PAI-2, Hurlin, SCCA1, SCCA2 und Gen Y zeigen auf genetischer Ebene einen fast identischen Aufbau aus sieben Exons, acht Introns und die gleichen Splice-Junctions (Abts *et al.*, 2001; Silverman *et al.*, 1998; Remold-O'Donnell, 1993).

Ov-Serpine sind auf Chromosom 18q21 und 6p25 lokalisiert, viele der 18q21 Serpine haben ein Exon, das für eine Polypeptidschleife mit besonderen Funktionen zwischen Helices C und D kodiert (die CD-Schleife). Die CD-Schleife vermittelt besondere, die einzelnen Ov-Serpine auszeichnende, Charakteristika und kann mit verschiedenen Eiweißen reagieren, zum Beispiel ist sie bei PAI-2 ein Ziel für die Transglutaminase (Silverman *et al.*, 2001; Jensen *et al.*, 1994).

Menschliche Ov-Serpine sind kompetitive Inhibitoren von Serin- und Cystein-Proteinasen, einige Mitglieder dieser Gruppe hemmen auch mehrere Proteinasen.

Immer neue physiologische Funktionen der Ov-Serpine werden entdeckt, bislang bekannt ist die Rolle von Ov-Serpinen in Veränderungen der extrazellulären Matrix, Schutz vor Apoptose, Schutz von Geweben vor proteolytischem Schaden, Barrierefunktionen mit Schutz vor mikrobiellen und viralen Proteinasen, Zellwachstum und Differenzierung, Tumorsuppressorfunktion und Angiogenese (Silverman *et al.*, 2001).

Bislang identifizierte menschliche Ov-Serpine sind in Tabelle 1.2 aufgeführt:

Tabelle 1.2: Übersicht über bislang entdeckte Ov-Serpine (Anhang zu Silverman *et al.*, 2001)

Gen-Symbol	Gen-Name	Chromosomale Lokalisation	Zielproteinase/Aktivität	Erstbeschreiber
SerpinB1	Monocyte / Neutrophile Elastase Inhibitor (MNEI)	6p25	Neutrophile Elastase, Kathepsin G, Proteinase 3	Remold-O'Donnell <i>et al.</i> , 1992
SerpinB2	Plasminogen Aktivator Inhibitor-2 (PAI-2)	18q21.3	uPA	Ye <i>et al.</i> , 1987
SerpinB3	Squamous cell carcinoma antigen 1	18q21.3	Kathepsine L, S und K	Suminami <i>et al.</i> , 1991
SerpinB4	Squamous cell carcinoma antigen 2 / Leupin	18q21.3	Kathepsin G, Chymase	Schneider <i>et al.</i> , 1995, Barnes und Worall, 1995
SerpinB5	Maspin	18q21.3	Hemmung der Angiogenese, und der Zellmobilität, Tumorsuppressor	Zou <i>et al.</i> , 1994
SerpinB6	Zytoplasmatische Antiproteinase / Protease Inhibitor 6	6p25	Kathepsin G, Plasmin, Chymotrypsin, Thrombin, Trypsin	Morgenstern <i>et al.</i> , 1994, Sun <i>et al.</i> , 1995
SerpinB7	MEGSIN	18q21.3	Plasmin, Wachstum von Mesangiumzellen	Kurokawa <i>et al.</i> , 1998
SerpinB8	Zytoplasmatische Antiproteinase 2 / Protease Inhibitor 8	18q21.3	Furin	Sprecher <i>et al.</i> , 1995
SerpinB9	Zytoplasmatische Antiproteinase 3 / Protease Inhibitor 9	6p25	Granzym B, CASP1, Subtilisin A	Sprecher <i>et al.</i> , 1995
SerpinB10	Bomapin	18q21.3	Thrombin, Trypsin	Riewald und Schleef, 1995
SerpinB11	EPIPIN	18q21.3	?	?
SerpinB12	YUKOPIN	18q21.3	Trypsin	Silverman <i>et al.</i> , 2001
SerpinB13	Hurpin	18q21.3	Kathepsin B und L	Abts <i>et al.</i> , 1997
SerpinBP1	Proteinase Inhibitor 8-Like1	6p25	wahrscheinlich ein Pseudogen	?

### 1.8.1.1 Plasminogen activator inhibitor-2/SerpinB 2

Plasminogen activator inhibitor type-2 (PAI-2) ist Teil des Plasminogen Aktivator Systems, das aus Plasminogen Aktivatoren (PA), Plasminogen Aktivator Inhibitoren (PAI) und spezifischen Zelloberfläche-Rezeptoren besteht. Dieses System spielt eine wichtige Rolle in der epidermalen Pathophysiologie (Bechtel *et al.*, 1998). PAI-2 findet sich in verschiedenen Zellen und Geweben, die höchsten Konzentrationen werden in Keratinozyten und Monozyten/Makrophagen nachgewiesen (Hibino *et al.*, 1986; Kruithof *et al.*, 1995). In der Haut findet sich PAI-2 vor allem in den postmitotischen Zellen der oberen Epidermis, der äußeren Haarwurzelscheide und in den differenzierenden Zellen des Nagelbetts (Lavker *et al.*, 1998; Lyons-Giordano *et al.*, 1994). Im Gegensatz zu vielen anderen Serin-Proteinase-Inhibitoren, ist PAI-2 im Plasma außer im letzten Schwangerschaftstrimenon nicht nachweisbar (Kruithof *et al.*, 1995). PAI-2 existiert in einer intrazellulären, nicht glykosylierten, 47 kDA schweren Form und als sezerniertes, glykolysiertes, 60 kDA schweres Protein. Das PAI-2-Gen hat kein Signalpeptid, dies erklärt, warum der Großteil von PAI-2 intrazellulär verbleibt (Bachmann, 1995).

Laut Bechtel *et al.* ist PAI-2 der wichtigste PAI in der menschlichen Epidermis. Im Folgenden werden die einzelnen Funktionen in der Epidermis genauer beschrieben:

#### 1. Antiproliferative Wirkung von PAI-2:

PAI-2 inhibiert Urokinase Plasminogen Aktivator (uPA), sowie in schwächerem Ausmaß Gewebe Plasminogen Aktivator (tPA). uPA katalysiert die Hydrolyse einer Arg-Val Bindung in Plasminogen, dadurch entsteht Plasmin. Plasmin ist eine Serin-Proteinase, die verschiedene extrazelluläre Eiweiß-Substrate hydrolysiert. Darüber hinaus vermittelt uPA nach Bindung an einen spezifischen uPA-Rezeptor an der Zelloberfläche biologische Funktionen wie zum Beispiel Gewebsumbau, Zellmigration und Abbau von extrazellulärer Matrix. uPA ist mitogen und spielt eine wichtige Rolle als Wachstumsfaktor, insbesondere für epidermale Zellen (Abb. 1.10). Dieser proliferative Effekt ist uPA spezifisch und ist nicht vom klassischen PA-System abhängig (Kirchheimer *et al.*, 1989; Hibino *et al.*, 1999). Als uPA-Antagonist hemmt PAI-2 in Keratinozytenkulturen die Zellproliferation (Hibino *et al.*, 1999).

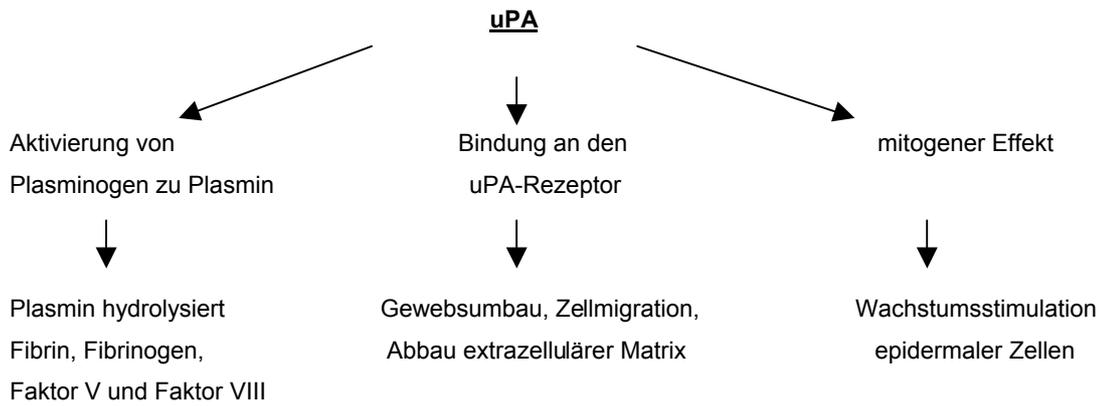


Abb. 1.10: Die Wirkungen von uPA

## 2. Regulation der Wundheilung:

PAI-2 ist in der Normalhaut nachweisbar, insbesondere perizellulär in den oberen Schichten der Epidermis, dem oberen Stratum spinosum und dem Stratum granulosum (Bechtel *et al.*, 1996). Im Gegensatz dazu sind uPA und der uPA-Rezeptor in gesunder Epidermis kaum nachweisbar, die uPA-Aktivität der epidermalen Zellen ist jedoch während Wundheilung und unter pathologischen Bedingungen, die mit gesteigerter Keratinozytenproliferation einhergehen (z. B. Psoriasis), deutlich messbar (Hibino *et al.*, 1999). Unter diesen Bedingungen ist auch die Expression von PAI-2 in der gesamten Epidermis gesteigert. Möglicherweise reguliert PAI-2 den Abbau von extrazellulärer Matrix während des Heilungsprozesses, indem es die perizelluläre Plasminogen-Aktivierung durch Hemmung von uPA hemmt. Eine andere Hypothese zur Funktion von PAI-2 in der Wundheilung berücksichtigt die Tatsache, dass PAI-2 vor dem durch TNF- $\alpha$  vermitteltem Zelltod schützt. Im Zuge der Re-Epithelialisierung und der dabei stattfindenden Einwanderung der Keratinozyten, verlieren diese ihre interzellulären Kontakte und sind einer erhöhten Exposition gegenüber TNF- $\alpha$  ausgesetzt. Indem die Apoptose verzögert wird, können die Keratinozyten vor Abschluss ihrer terminalen Differenzierung ihre vitalen Funktionen während der Wundheilung ausführen. Die terminale Differenzierung kann hier als besondere Form der Apoptose gesehen werden (Bechtel *et al.*, 1998).

## 3. PAI-2 und TNF- $\alpha$ :

Die Expression von PAI-2 wird durch TNF- $\alpha$  induziert. TNF- $\alpha$  ist ein Zytokin, das eine wichtige Rolle als Entzündungsmediator spielt. Die Bindung von TNF- $\alpha$  an spezifische Rezeptoren führt unter anderem dazu, dass Proteinase aktiviert werden,

die zur Zytolyse von Zellen beitragen. Daneben induziert TNF- $\alpha$  auch die Synthese protektiver Proteine, die in der Zelle dem zytotoxischen Effekt von TNF- $\alpha$  entgegenwirken (Kumar und Baglioni, 1991). Dickinson et al. wiesen 1995 nach, dass PAI-2 Zellen vor TNF- $\alpha$ -vermitteltem Zelltod schützt. Dies geschieht über eine Interaktion zwischen der 33 Aminosäure großen CD-Schleife und einer von TNF- $\alpha$ -induzierten, intrazellulären Protease (Dickinson *et al.*, 1998). Monozyten, die im Rahmen der Entzündungsantwort hohen Dosen von TNF- $\alpha$  ausgesetzt sind, werden durch intrazelluläres PAI-2 vor der Apoptose geschützt und können so ihren Funktionen in der Entzündungsantwort nachkommen (Dickinson *et al.*, 1995).

#### 4. PAI-2 im „cornified cell envelope“:

PAI-2 wird während der terminalen Differenzierung der Keratinozyten in den „cornified cell envelope“ eingebaut (Jensen *et al.*, 1995). Möglicherweise vermitteln Transglutinasen der Haut die kovalente Quervernetzung von PAI-2 mit den Eiweißen des „cornified cell envelope“. Im „cornified cell envelope“ scheint PAI-2 die Expression von Involukrin zu senken, eventuell schützt es so die Korneozyten vor frühzeitiger Reifung (Lian und Yang, 2004). Die Hypothese, dass PAI-2 in der Haut ein Substrat für Transglutaminase ist, wird dadurch gestützt, dass PAI-2 im Blut durch Gewebs-Transglutaminase und durch Faktor XIIIa mit Fibrinogen quervernetzt wird. Dies geschieht über 3 Glutaminreste an Position 83, 84 und 86 in der CD-Schleife. Interessanterweise bleibt PAI-2 trotz der Quervernetzung aktiv und hemmt die Plasminsynthese. Somit verhindert es die Fibrinolyse und stabilisiert das Blutgerinnsel. Da sich die CD-Schleife an der Moleküloberfläche befindet, ist sie in einer idealen Position um an Bindungsreaktionen teilzunehmen ohne die inhibitorischen Funktionen des Serpins zu beeinträchtigen (Ritchie *et al.*, 2000).

Im Gegensatz zu aktivem PAI-2, dass vor allem in der oberen Epidermis nachweisbar ist, findet sich gespaltenes, inaktiviertes PAI-2 (PAI-2r) intrazellulär in größeren Mengen in Zellen des Stratum basale, ebenso wie in den differenzierten Zellen des Haarfollikelfundibulums und in der äußeren Haarwurzelscheide. Dies weist darauf hin, dass eine intrazelluläre Zielprotease existieren könnte, die PAI-2 prozessiert. Möglicherweise unterscheidet sich die Funktion von PAI-2 in Basalzellen von der Funktion in der oberen Epidermis (Risse *et al.*, 2000; Jensen *et al.*, 2000).

### 1.8.1.2 Hurpin/Serpin B 13

1997 identifizierten Abts und Mitarbeiter ein durch UV-Licht reprimierbares Gen in HaCaT-Zellen. Das Genprodukt ist ein Ov-Serpin, das als Hurpin (**H**aCaT **U**V-**r**epr**e**ssible **s**er**p****i****n**) bezeichnet wurde und das die systematische Bezeichnung Protease Inhibitor 13 (PI 13) erhielt (Abts *et al.*, 1997). Unabhängig davon wurde Hurpin 1999 von Spring und Mitarbeitern in der Mundschleimhaut nachgewiesen und als Headpin bezeichnet. Spring *et al.* stellten fest, dass Hurpin/Headpin in oropharyngealen Karzinomen herabreguliert ist (Spring *et al.*, 1999).

Hurpin ist ein intrazelluläres Serpin, dessen Transkription in der Epidermis durch UV-Exposition gesenkt wird (Abts *et al.*, 1997 und 1999). Es besteht aus 391 Aminosäureresten und hat eine molekulare Masse von circa 44 kDa. Abts und Mitarbeitern wiesen zwei unterschiedliche Hurpin-Transkripte von 3,0 und 3,4 kb nach. Die Aminosäuren sind zu fast 59% mit den Aminosäuren von squamous cell carcinoma antigen 1 (SCCA1) und squamous cell carcinoma antigen 2 (SCCA2) identisch. Durch Vergleich mit anderen Serpinen gelang die Identifikation von Thr356-Ser357 an Positionen P1-P1' (Abts *et al.*, 1999). Hurpin hat, wie andere Ov-Serpine auch, eine charakteristische CD-Schleife zwischen Helix C und Helix D. Diese Schleife ermöglicht eine Interaktion mit anderen Proteinen, unabhängig von der „reactive site loop“ des Serpins (Jensen *et al.*, 1996; Welss *et al.*, 2003).

Außer in HaCaT-Zellen konnte Hurpin bislang nur in Keratinozytenkulturen und in menschlichen Haut- und Mundschleimhautbiopsien nachgewiesen werden. Auffälligerweise ist die Hurpin-Expression in Normalhaut geringer als in Keratinozytenkulturen und in HaCaT-Zellen. Abts und Mitarbeiter gingen der Frage nach, ob die Hurpin-Expression mit dem Proliferationsstatus der Zellen zusammenhängt. Da Psoriasis durch eine Hyperproliferation von epidermalen Zellen gekennzeichnet ist, wurde die Hurpin-Expression in betroffener und nicht-betroffener Haut von Psoriasis Patienten mittels RT-PCR untersucht. In betroffener Haut war die Hurpin-Expression in Vergleich zu Normalhaut um das 10- bis 14-fache gesteigert. Die Tatsache, dass Hurpin vor allem in proliferierenden epidermalen Keratinozyten exprimiert wird, deutet auf eine Rolle in der Differenzierung dieser Zellen und in Prozessen der Wundheilung hin (Abts *et al.*, 1999).

Konsensussequenzvergleiche von Hurpin mit bekannten inhibitorischen Serpinen lassen vermuten, dass Hurpin in der Lage ist Proteasen zu inhibieren. Die physiologische Ziel-Serin-Protease ist allerdings unbekannt. Mit bislang bekannten Serin-Proteasen (Trypsin, Chymotrypsin, humane neutrophile Elastase, Proteinase 3, Thrombin, Plasmin, Kathepsin G) und Cystein-Proteasen (Kathepsin B und L) sowie mit der Aspartat-Protease Kathepsin D

bildet Hurpin keine SDS-stabilen Komplexe. SDS-stabile Komplexe sind jedoch für die Cystein-Inhibition durch Serpine nicht unbedingt notwendig (Zhou *et al.*, 1997) und die Cystein-Proteasen Kathepsin B und Kathepsin L sind in der Lage Hurpin zu spalten ohne SDS-stabile Komplexe auszubilden. Somit ist Hurpin auch ohne diese Komplexbildung ein potenter Inhibitor von Kathepsin L. Da Kathepsin L über die Aktivierung von Caspase 3 pro-apoptotisch wirkt, kann Hurpin als Kathepsin L-Inhibitor in Keratinozyten anti-apoptotisch wirksam sein (Wells *et al.*, 2003).

### 1.8.1.3 Bomapin/Serpin B 10

Die Arbeitsgruppe von Riewald und Schleef klonierte 1995 ein neues Mitglied der Ov-Serpin Familie aus einer menschlichen Knochenmark cDNA Bank. Das neue Gen kodiert für ein 397 Aminosäuren großes und 45kDa schweres Protein. Da der erste Nachweis des Proteins in menschlichem Knochenmark erfolgte, wurde es Bomapin (**bone marrow associated serpin**) genannt und erhielt die systemische Bezeichnung Protease Inhibitor 10. Bomapin hat 48% Aminosäure-Homologie mit PAI-2, Protease Inhibitor 6 und Human Leukocyte Elastase Inhibitor. Im Knochenmark wird Bomapin als ein 2,3 Kilobasen Transkript exprimiert, in anderen untersuchten Geweben (Herz, Hirn, Plazenta, Lunge, Leber, Skelettmuskel, Niere, Pankreas, Milz, Thymus, Prostata, Hoden, Eierstock, Dünn- und Dickdarm und Leukozyten) konnten Riewald und Schleef kein Bomapin nachweisen. Die Expression von Bomapin in der Epidermis wurde bislang nicht untersucht. Durch Vergleich mit anderen Serpinen wurden die Aminosäuren an Positionen P1-P1' als Arg-362 und Ile-363 identifiziert (Riewald und Schleef, 1995). Zwischen Helices C und D befindet sich die für Ov-Serpine charakteristische CD-Schleife. Die Aminosäuren in dieser Schleife bilden bei Bomapin eine unabhängige Domäne, die dazu dient das Molekül in den Nukleus einzuschleusen. Möglicherweise schützt Bomapin auf diese Weise intranukleäre Proteine vor proteolytischer Degradierung (Chuang und Schleef, 1999).

Die physiologische Zielprotease von Bomapin ist noch unbekannt. Sequenzanalysen und die Tatsache, dass Arginin die Aminosäure in Position P1 an der „reactive site loop“ ist, weisen jedoch darauf hin, dass Bomapin Trypsin-ähnliche Proteasen hemmt. *In vitro* bildet Bomapin SDS-stabile Komplexe mit Trypsin und Thrombin (Riewald und Schleef, 1995).

Immunoblotting- und Immunopräzipitationsexperimente zeigen, dass Bomapin SDS-stabile Komplexe mit einem oder mehreren, durch TNF- $\alpha$  aktivierten, zytosolischen Proteinen bildet. HeLa-Zellen, die Bomapin exprimieren, sind resistenter gegenüber TNF- $\alpha$ -induzierter Apoptose als Zellen, die kein Bomapin exprimieren. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass während TNF- $\alpha$ -vermitteltem Zelltod eine Serin-Protease aktiviert wird, die durch Bomapin gehemmt werden kann (Schleef und Chuang, 2000).

Bomapin ist im Knochenmark und im Blut von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie und mit chronischer myelomonozytärer Leukämie erhöht, dies lässt vermuten, dass Bomapin bevorzugt in monozytären Vorläuferzellen exprimiert wird, um die Protease-Aktivität während der Hämatopoese zu regulieren (Chuang und Schleef, 1999).

## 1.9 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, die immunhistochemische Expression verschiedener Serin-Protease-Inhibitoren in der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom mit der Expression dieser Inhibitoren in der Haut von Patienten mit Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis zu vergleichen.

Der Serin-Protease-Inhibitor LEKTI ist beim Netherton Syndrom aufgrund von Mutationen im SPINK5-Gen stark vermindert und fehlt in der Regel völlig (Raghunath *et al.*, 2004). Eine Wirkung von LEKTI ist die Hemmung der Kallikreine Stratum corneum chymotrypsisches Enzym (SCCE) und Stratum corneum tryptisches Enzym (SCTE), die eine wichtige Rolle bei Prozessen der Desquamation spielen (Komatsu *et al.*, 2002). Elafin, ein anderer Serin-Protease-Inhibitor mit geringerer inhibitorischer Wirkung gegenüber SCCE (Franzke *et al.*, 1996), wird in der Netherton Epidermis vermehrt exprimiert. Möglicherweise ist eine Kompensation für das fehlende LEKTI der Grund für die Elafin-Erhöhung, oder aber der Elafin-Anstieg ist ein Zeichen der entzündlichen Veränderung in der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom.

Bei Psoriasis vulgaris, einer Genodermatose, die mit entzündlichen Hautveränderungen und einer starken Hyperproliferation der Keratinozyten einhergeht, wird ebenfalls eine stark erhöhte Elafin-Expression in der Epidermis nachgewiesen. Zudem ähnelt die Histologie des Netherton Syndroms der Psoriasis vulgaris und es bestehen immunhistochemische Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Erkrankungen. So werden beim Netherton Syndrom die Transglutaminasen 1 und 3 differentiell, d.h. gegenläufig, exprimiert: die Transglutaminase 1 ist erhöht und die Transglutaminase 3 ist erniedrigt. Eine ähnliche Situation finden wir auch in der psoriatischen Haut (Raghunath *et al.*, 2004).

Das Netherton Syndrom gilt allgemein als eine Modellerkrankung für die Pathophysiologie der atopischen Dermatitis. Eine schwere atopische Dermatitis ist klinisch kaum vom Netherton Syndrom zu unterscheiden, beide Erkrankungen gehen mit stark erhöhten Serum IgE-Spiegeln und atopischer Diathese einher. Die Beobachtung, dass SPINK5-Polymorphismen mit Asthma und atopischer Dermatitis assoziiert sind (Walley *et al.*, 2001; Kabesh *et al.*, 2003), unterstützt die Hypothese, dass die Pathophysiologie des Netherton Syndroms und der atopischen Dermatitis eine gemeinsame Grundlage haben.

Folgenden Fragen wird in dieser Arbeit nachgegangen:

**Frage 1:** Werden in der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom außer Elafin noch andere Serin-Protease-Inhibitoren vermehrt exprimiert?

**Frage 2:** Bestehen in der immunhistochemischen Anfärbung ausgesuchter Serin-Protease-Inhibitoren Parallelen zwischen dem Netherton Syndrom und der Psoriasis vulgaris oder atopischer Dermatitis?

In dieser Arbeit wurde die Expression der Serin-Protease-Inhibitoren LEKTI, Elafin und der Serpine PAI-2, Hurspin und Bomapin untersucht. Das Patientenkollektiv bestand aus 10 Patienten mit Psoriasis vulgaris, 6 Patienten mit atopischer Dermatitis und 6 Patienten mit Netherton Syndrom. Von den Hautbiopsien der Patienten wurden Kryostatschnitte angefertigt, immunhistochemisch bearbeitet und mittels Immunfluoreszenz-Mikroskopie ausgewertet.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Materialgewinnung und Lagerung**

Stanz-Biopsien von ca. 3 – 4 mm Größe wurden in flüssigem Stickstoff schnellgefroren und in einer Tiefkühltruhe bei ca. – 80 °C bis zur weiteren Behandlung aufbewahrt.

Die Biopsien wurden zur mikroskopischen Untersuchung mit Cryo-embedding Compound präpariert und mit dem Kryostat in 3 µm dünne Schnitte geschnitten.

### **2.2 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI / Immunfluoreszenz**

#### **2.2.1 Reagenzien und Probematerialien**

1. Gefrierschnitte von Normalhaut, Psoriasisishaut, Nethertonhaut und Haut von atopischer Dermatitis
2. Aceton  
Hauslieferant
3. DAKO Pen  
Firma DAKO GmbH, Hamburg, Deutschland, Code N° S 2002
4. Goat Normalserum  
Firma Jackson Immunoresearch, Lot 56599, Code N° 005-000-121
5. monoklonaler LEKTI Antikörper (Maus)  
Zur Verfügung gestellt von GL Clayman, University of Texas, Houston, Texas
6. PBS (phosphate buffered saline)  
Firma GIBKO, Lot 3073702, cat. no. 18912-014

7. Fluorescein goat anti-mouse Antikörper  
Firma Jackson Immuno Research, Lot. 54890, Code N° 115-095-072
  
8. Mowiol 4-88  
Polyvinylalkohol  
Firma Hoechst, Frankfurt, Deutschland
  
9. Aqua destillata

### **2.2.2 Lösungen**

#### **PBS Lösung**

Zwei PBS-Tabletten in 1000 ml aqua destillata lösen

#### **Goat Normalserum 10% in PBS**

100 µl Goat Normalserum + 900 µl PBS

#### **Anti-LEKTI 1 : 200**

5 µl Anti-LEKTI + 995 µl PBS

#### **Fluorescein goat anti-mouse Antikörper 1 : 100 in PBS**

10 µl Fluorescein goat anti-mouse Antikörper + 990 µl PBS

#### **Mowiol**

20 g Mowiol in 80 ml PBS geben und 40 ml Glycerin hinzufügen, 8 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Ungelöste Mowiolpartikel werden durch Zentrifugation entfernt (15 Minuten bei 12 000 rpm)

### **2.2.3 Versuchsdurchführung**

#### **Vorbereitung:**

Vor der Durchführung der eigentlichen Versuche wurde die am besten verwertbare Verdünnungsstufe mit verschiedenen Konzentrationen des primären Antikörpers (1:25, 1:50, 1:100 und 1:200) nach unten stehendem Protokoll austitriert.

#### **Tag 1:**

Die Gefrierschnitte von Normalhaut und Patientenhaut wurden 10 Minuten bei Raumtemperatur luftgetrocknet.

Nach der Fixierung in Aceton bei  $-20\text{ °C}$  für 10 Minuten wurden die Schnitte erneut für 10 Minuten luftgetrocknet, beschriftet und mit DAKO-Pen markiert. Danach wurden sie mit 10% Goat Normalserum überschichtet und 30 Minuten inkubiert, mit dem Ziel unspezifische Bindungsstellen zu blockieren.

Das überschüssige Serum wurde vorsichtig mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Als nächster Schritt wurde die primäre Antikörperlösung frisch in abgemessenen Mengen verdünnt und auf die Schnitte gegeben. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei Raumtemperatur.

Zusätzlich zu der Überschichtung der Hautschnitte mit dem primären Antikörper, wurde auch ein Leerpräparat als Negativkontrolle hergestellt. Dafür wurde ein Schnitt, statt mit dem primären Antikörper, nur mit dem Normalserum beschichtet. Jede hier auftretende positive Anfärbung deutet auf eine unspezifische Proteinbindung hin, die nicht durch die antikörperbedingte Lokalisation des Antigens hervorgerufen wird.

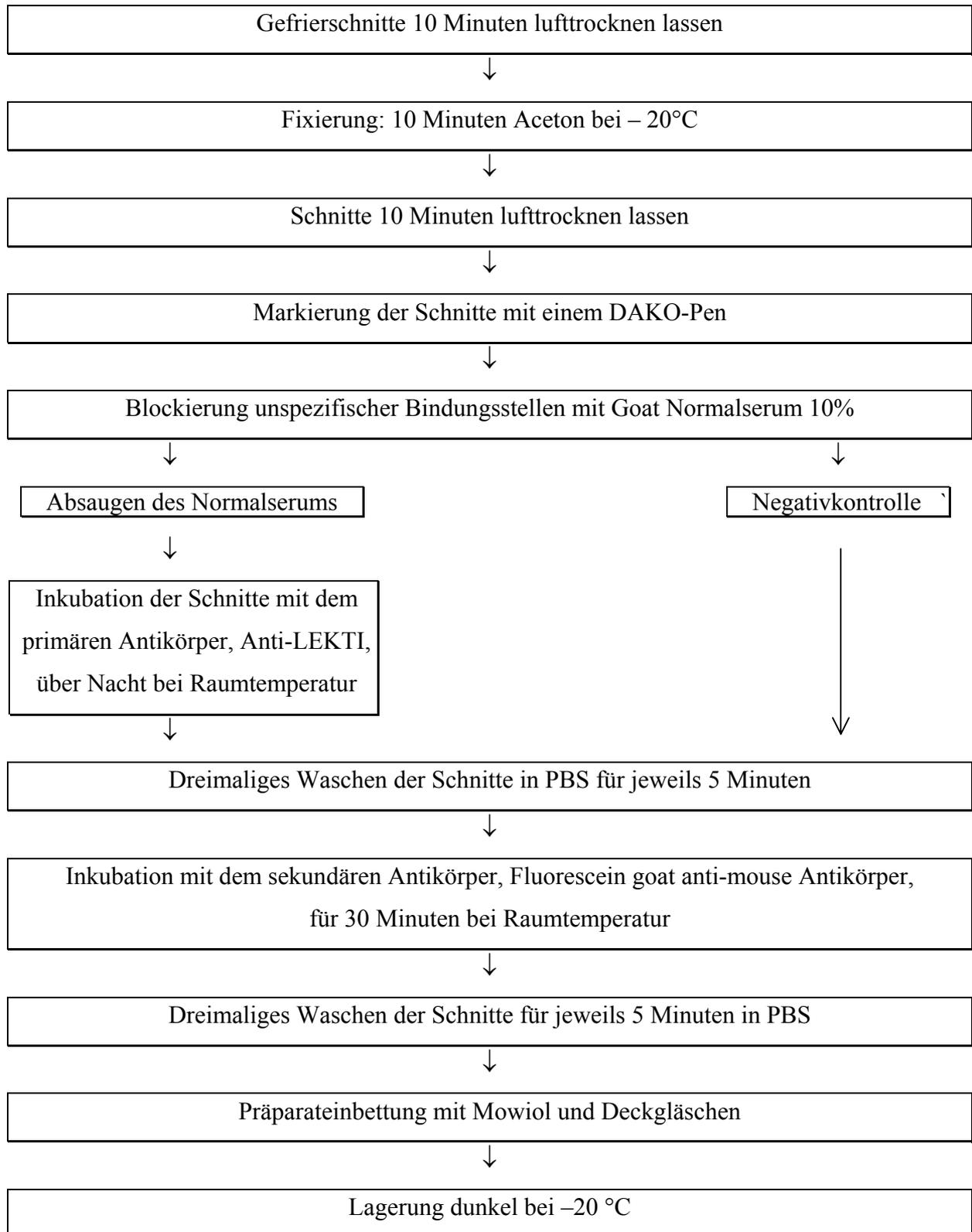
#### **Tag 2:**

Nach der Inkubation über Nacht wurden die Schnitte 3 mal 5 Minuten in PBS gewaschen. Darauf folgte die Überschichtung mit dem sekundären Antikörper für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Dann wurden die Schnitte erneut 3 mal 5 Minuten in PBS gewaschen. Abschließend wurden die Präparate in Mowiol eingebettet und mit Deckgläschen fixiert.

Nach Beendigung des Versuchsvorganges wurden die Schnitte unter dem Immunfluoreszenzmikroskop von Zeiss bei 20- und 40-facher Vergrößerung betrachtet und mit AxioCam HR Videokamera und AxioVision 3.0 Software (Carl Zeiss, Jena, Deutschland) fotografiert und digitalisiert.

Die Lagerung der Präparate erfolgte im Dunkel bei  $-20\text{ °C}$ .

## Flussdiagramm zur Darstellung von LEKTI



## **2.3 Immunhistochemische Darstellung von Elafin / Immunfluoreszenz**

### **2.3.1 Reagenzien und Probematerialien**

1. Gefrierschnitte von Normalhaut, Psoriasisishaut, Nethertonhaut und Haut von atopischer Dermatitis
2. DAKO Pen  
Firma DAKO GmbH, Hamburg, Deutschland, Code N° S 2002
3. Goat Normalserum  
Firma Jackson Immunoresearch, Lot 56599, Code N° 005-000-121
4. monoklonaler Elafin Antikörper (Kaninchen)  
Firma Peptide Institute, Code: 922-420-306
5. PBS (phosphate buffered saline)  
Firma GIBKO, Lot 3073702, cat. no. 18912-014
6. Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper  
Firma Jackson Immuno Research, Lot. 51691, Code N° 111-096-006
7. Mowiol 4-88  
Polyvinylalkohol  
Firma Hoechst, Frankfurt, Deutschland
8. Aqua destillata

### **2.3.2 Lösungen**

#### **PBS Lösung**

Zwei PBS-Tabletten in 1000 ml aqua destillata lösen

#### **Goat Normalserum 10% in PBS**

100 µl Goat Normalserum + 900 µl PBS

#### **Elafin 1 : 200 und 1 : 400**

5 µl Anti-Elafin + 995 µl PBS

2,5 µl Anti-Elafin + 997,5 µl PBS

#### **Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper 1 : 100 in PBS**

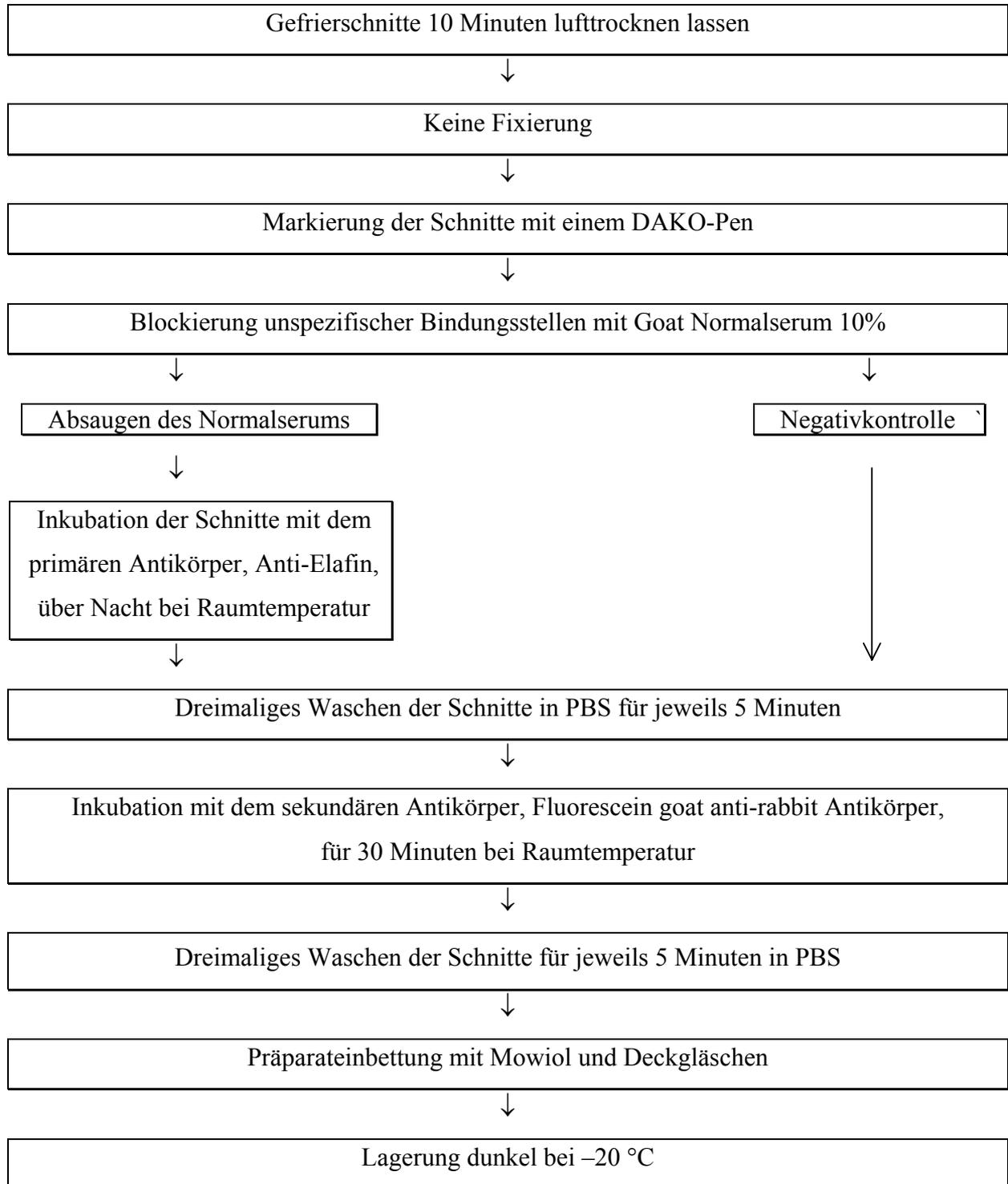
10 µl Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper + 990 µl PBS

#### **Mowiol**

20 g Mowiol in 80 ml PBS geben und 40 ml Glycerin hinzufügen, 8 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Ungelöste Mowiolpartikel werden durch Zentrifugation entfernt (15 Minuten bei 12 000 rpm)

### 2.3.3 Versuchsdurchführung

#### Flussdiagramm zur Darstellung von Elafin



## **2.4 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 / Immunfluoreszenz**

### **2.4.1 Reagenzien und Probematerialien**

1. Gefrierschnitte von Normalhaut, Psoriasisishaut, Nethertonhaut und Haut von atopischer Dermatitis
  
2. Aceton  
Hauslieferant
  
3. DAKO Pen  
Firma DAKO GmbH, Hamburg, Deutschland, Code N° S 2002
  
4. Goat Normalserum  
Firma Jackson Immunoresearch, Lot 56599, Code N° 005-000-121
  
5. monoklonaler PAI-2 Antikörper (Maus)  
Firma American diagnostica, Lot 531012, prod.no. 3750
  
6. PBS (phosphate buffered saline)  
Firma GIBKO, Lot 3073702, cat. no. 18912-014
  
7. Fluorescein goat anti-mouse Antikörper  
Firma Jackson Immuno Research, Lot. 54890, Code N° 115-095-072
  
8. Mowiol 4-88  
Polyvinylalkohol  
Firma Hoechst, Frankfurt, Deutschland
  
9. Aqua destillata

## **2.4.2 Lösungen**

### **PBS Lösung**

Zwei PBS-Tabletten in 1000 ml aqua destillata lösen

### **Goat Normalserum 10% in PBS**

100 µl Goat Normalserum + 900 µl PBS

### **Anti-PAI-2 1 : 200**

5 µl Anti-PAI-2 + 995 µl PBS

### **Fluorescein goat anti-mouse Antikörper 1 : 100 in PBS**

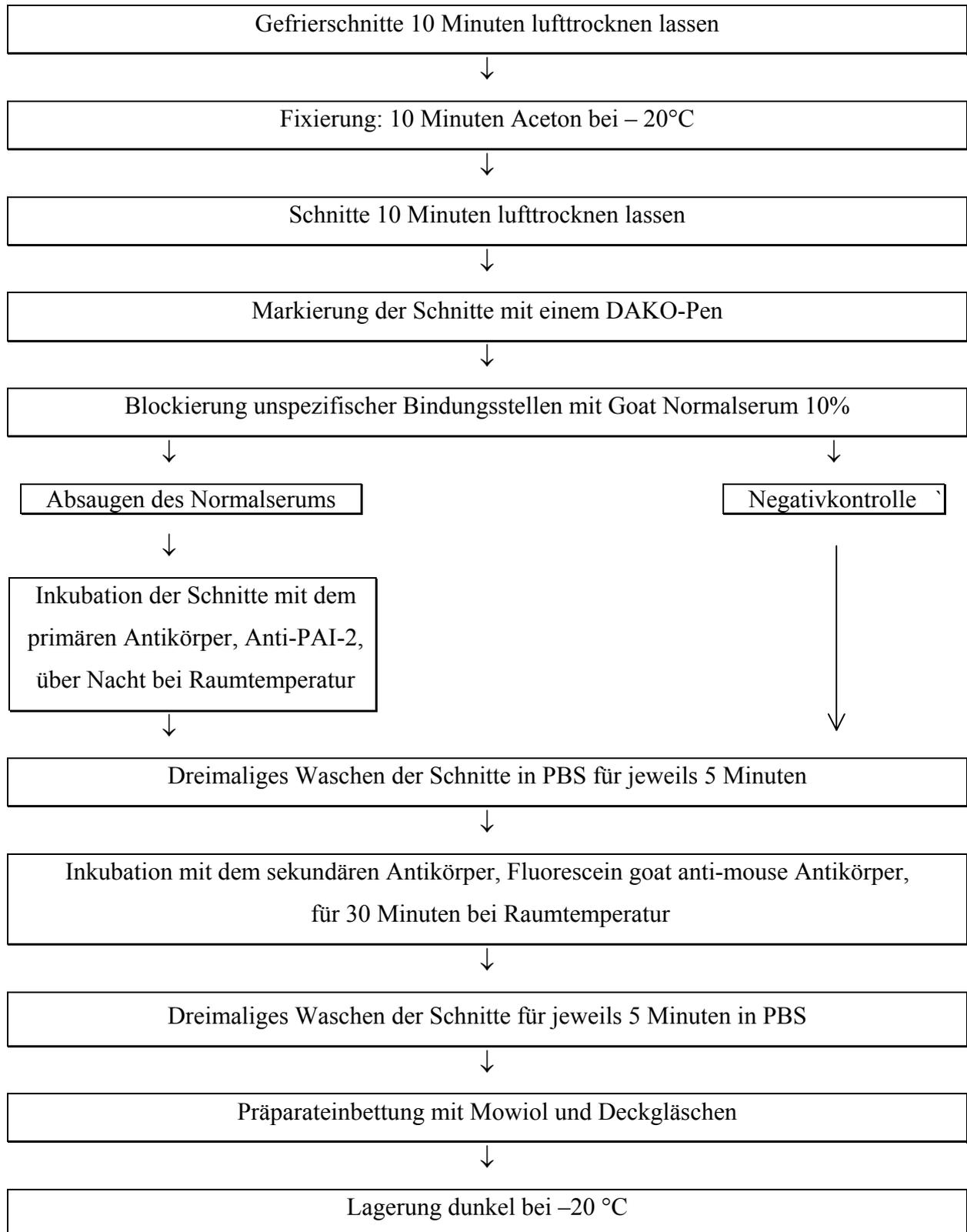
10 µl Fluorescein goat anti-mouse Antikörper + 990 µl PBS

### **Mowiol**

20 g Mowiol in 80 ml PBS geben und 40 ml Glycerin hinzufügen, 8 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Ungelöste Mowiolpartikel werden durch Zentrifugation entfernt (15 Minuten bei 12 000 rpm)

### 2.4.3 Versuchsdurchführung

#### Flussdiagramm zur Darstellung von PAI-2



## **2.5 Immunhistochemische Darstellung von Hurlin (Serpine B 13) / Immunfluoreszenz**

### **2.5.1 Reagenzien und Probematerialien**

1. Gefrierschnitte von Normalhaut, Psoriasis-Haut, Neurodermitis-Haut und Haut von atopischer Dermatitis
  
2. Aceton  
Hauslieferant
  
3. DAKO Pen  
Firma DAKO GmbH, Hamburg, Deutschland, Code N° S 2002
  
4. Goat Normalserum  
Firma Jackson ImmunoResearch, Lot 56599, Code N° 005-000-121
  
5. monoklonaler Hurlin Antikörper (Kaninchen)  
Firma Gentaur, Ave. de l'armée 68, B4, B-1040, Brussels. Belgium
  
6. PBS (phosphate buffered saline)  
Firma GIBCO, Lot 3073702, cat. no. 18912-014
  
7. Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper  
Firma Jackson Immuno Research, Lot. 51691, Code N° 111-096-006
  
8. Mowiol 4-88  
Polyvinylalkohol  
Firma Hoechst, Frankfurt, Deutschland
  
9. Aqua destillata

## **2.5.2 Lösungen**

### **PBS Lösung**

Zwei PBS-Tabletten in 1000 ml aqua destillata lösen

### **Goat Normalserum 10% in PBS**

100 µl Goat Normalserum + 900 µl PBS

### **Anti-Hurpin 1 : 50**

20 µl Anti-Hurpin + 980 µl PBS

### **Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper 1 : 100 in PBS**

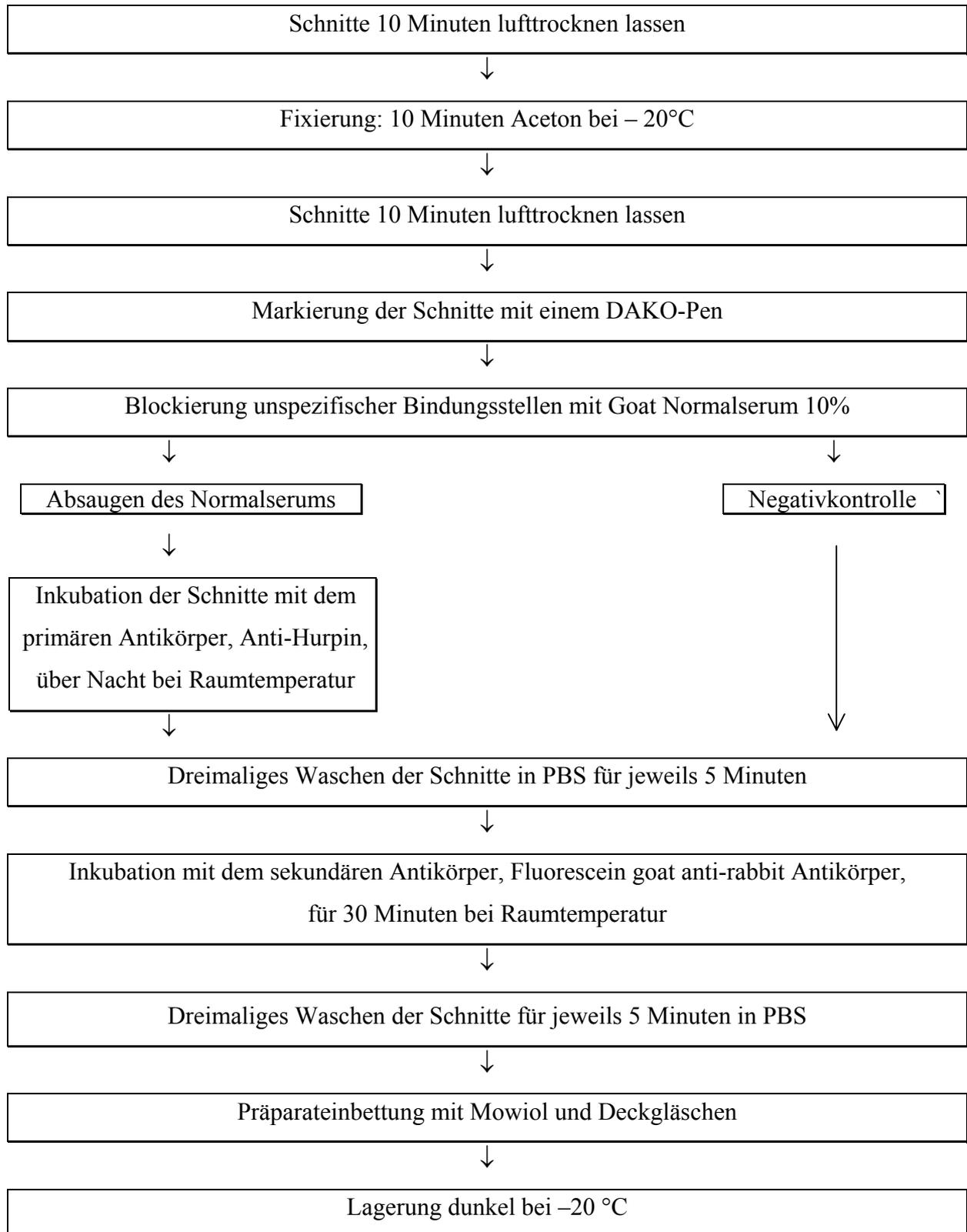
10 µl Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper + 990 µl PBS

### **Mowiol**

20 g Mowiol in 80 ml PBS geben und 40 ml Glycerin hinzufügen, 8 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Ungelöste Mowiolpartikel werden durch Zentrifugation entfernt (15 Minuten bei 12 000 rpm)

### 2.5.3 Versuchsdurchführung

#### Flussdiagramm zur Darstellung von Hurpin



## **2.6 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin (Serpine B 10) / Immunfluoreszenz**

### **2.6.1 Reagenzien und Probematerialien**

1. Gefrierschnitte von Normalhaut, Psoriasisishaut, Nethertonhaut und Haut von atopischer Dermatitis
2. Aceton  
Hauslieferant
3. DAKO Pen  
Firma DAKO GmbH, Hamburg, Deutschland, Code N° S 2002
4. Goat Normalserum  
Firma Jackson Immunoresearch, Lot 56599, Code N° 005-000-121
5. monoklonaler Bomapin Antikörper (Kaninchen)  
Firma Gentaur, Ave. de l'armee 68, B4, B-1040, Brussels. Belgium
6. PBS (phosphate buffered saline)  
Firma GIBKO, Lot 3073702, cat. no. 18912-014
7. Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper  
Firma Jackson Immuno Research, Lot. 51691, Code N° 111-096-006
8. Mowiol 4-88  
Polyvinylalkohol  
Firma Hoechst, Frankfurt, Deutschland
9. Aqua destillata

## **2.6.2 Lösungen**

### **PBS Lösung**

Zwei PBS-Tabletten in 1000 ml aqua destillata lösen

### **Goat Normalserum 10% in PBS**

100 µl Goat Normalserum + 900 µl PBS

### **Anti-Bomapin 1 : 100 und 1 : 200**

10 µl Anti.Bomapin + 990 µl PBS

5 µl Anti-Bomapin + 995 µl PBS

### **Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper 1 : 100 in PBS**

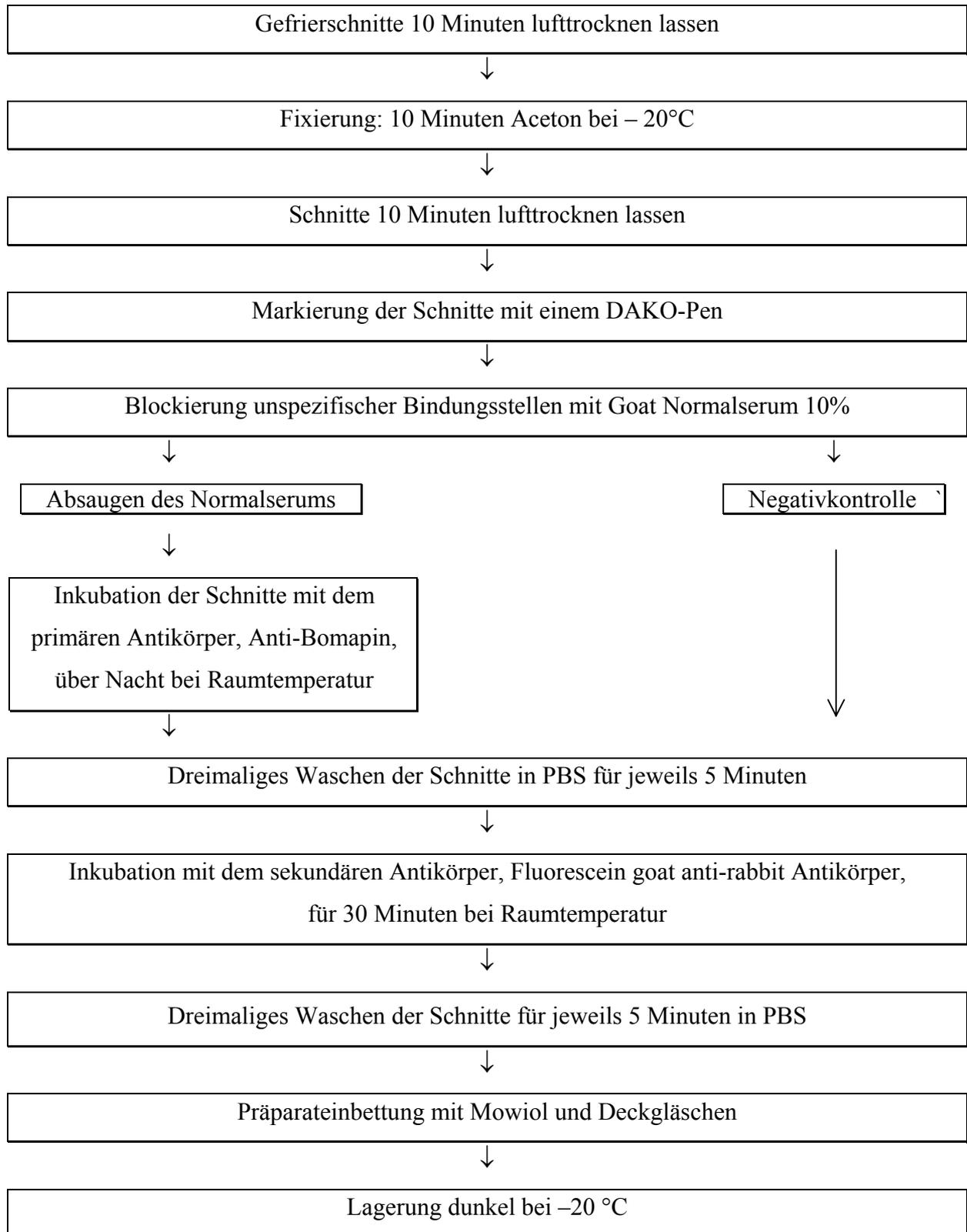
10 µl Fluorescein goat anti-rabbit Antikörper + 990 µl PBS

### **Mowiol**

20 g Mowiol in 80 ml PBS geben und 40 ml Glycerin hinzufügen, 8 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Ungelöste Mowiolpartikel werden durch Zentrifugation entfernt (15 Minuten bei 12 000 rpm)

### 2.6.3 Versuchsdurchführung

#### Flussdiagramm zur Darstellung von Bomapin



### **3 Ergebnisse**

Die Expression verschiedener Serin-Protease-Inhibitoren wurde an Kryostatschnitten von insgesamt 22 Patienten untersucht. Das Patientenkollektiv setzte sich aus 10 Patienten mit Psoriasis vulgaris, 6 Patienten mit atopischer Dermatitis und 6 Patienten mit Netherton Syndrom zusammen. Vorab wurden 10 Normalhäute untersucht, die bei den einzelnen Versuchen als Kontrollen dienten.

Bei der Untersuchung von LEKTI und Elafin wurde teilweise auf neue Färbungen verzichtet, da auf Ergebnisse der Arbeitsgruppe von Prof. Traupe aus früheren Untersuchungen zurückgegriffen werden konnte. In diesen Fällen wurden nur einzelne Kontrollfärbungen angefertigt.

#### **3.1 Beurteilungskriterien bei der Auswertung immunhistochemischer Färbungen**

Die Beurteilung des Signals der immunhistochemisch angefärbten Serin-Protease-Inhibitoren erfolgte nach folgenden Kriterien:

1. Stellt sich das Signal im Vergleich zur Normalhaut gleich, verbreitert oder verschmälert dar oder ist es abwesend?
2. In welchen Schichten der Epidermis wird das Signal nachgewiesen?
3. Ist das Signal perizellulär oder zytoplasmatisch lokalisiert?

#### **3.2 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI**

##### **3.2.1 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI in Normalhaut**

In der Normalhaut zeigt sich ein zytoplasmatisches, an einigen Stellen auch perizelluläres, 1-2 Schichten umfassendes LEKTI-Signal im Stratum granulosum (Raghunath *et al.*, 2004).

Die Kontrollen Normalhaut 11, 12, 13 und 17 bestätigen dieses Ergebnis.

### 3.2.2 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI bei Psoriasis vulgaris

In psoriatischer Haut zeigt LEKTI ein, im Vergleich zur Normalhaut, stark verringertes Signal (in 2 Häuten kein Signal) in der oberen Epidermis. Bei 3 der Häute ist dieses schwache Signal durchgehend zu sehen, während es bei 5 Häuten stellenweise dargestellt wird – das Muster ist „patchy“. Eine Haut weist auch in den suprabasalen Schichten einige Stellen mit schwacher diffuser LEKTI-Anfärbung auf (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1: Immunhistochemische Färbung von LEKTI bei Patienten mit Psoriasis vulgaris

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale
1237/01	-	-	-	-
1594/01	-	-	-	-
62/02	-	negativ bis deutlich reduziert, stellenweise zytoplasmatisch schwach +	-	-
142/02	-	sehr deutlich reduziert	-	-
414/03	-	sehr deutlich reduziert	-	-
501/03	-	negativ, stellenweise zytoplasmatisch schwach +	-	-
838/03	-	negativ, stellenweise zytoplasmatisch schwach +	stellenweise diffus schwach +	-
866/03	-	negativ, stellenweise zytoplasmatisch schwach +	-	-
1115/03	-	sehr deutlich reduziert	-	-
1116/03	-	negativ, stellenweise zytoplasmatisch schwach +	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>	<b>8 von 10 Häuten deutlich vermindertes Signal, davon 5 größtenteils negativ mit stellenweise schwacher Signalgebung; 2 Häute komplett negativ</b>	<b>9 von 10 Häuten negativ, 1 Haut stellenweise diffus positiv</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>

### 3.2.3 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI bei atopischer Dermatitis

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis findet sich in 4 von 6 Häuten eine 2-3 Schichten umfassende, zytoplasmatische Anfärbung von LEKTI im Stratum granulosum, wie bei Normalhaut. Bei den 2 anderen Häuten fehlt das Signal fast vollständig (Tab. 3.2).

Tabelle 3.2: Immunhistochemische Färbung von LEKTI bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
1661/99	-	+ 2-3 Schichten zytoplasmatisch	-	-
1854/99	-	+ sehr schwaches Signal am Übergang von Str. corneum zu Str. granulosum	-	-
524/00	-	+ 2-3 Schichten zytoplasmatisch	-	-
421/03	-	+ 2-3 Schichten zytoplasmatisch	-	-
465/03	-	+ 2-3 Schichten zytoplasmatisch	-	-
844/03	-	+ sehr schwaches Signal am Übergang von Str. corneum zu Str. granulosum	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>4 von 6 Häuten in 2-3 Schichten zytoplasmatische Anfärbung bei 2 Häuten nur sehr schwaches Signal</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>

### 3.2.4 Immunhistochemische Darstellung von LEKTI beim Netherton Syndrom

In der Haut von Netherton Patienten zeigt sich keine, oder nur eine schwache unspezifische Anfärbung von LEKTI (Raghunath *et al.*, 2004).

Kontrolle Nethertonhaut 1297/02 bestätigt dieses Ergebnis.

### 3.2.5 Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit LEKTI

Tabelle 3.3: Immunhistochemische Färbungen mit LEKTI

<b>Normalhaut</b>	<b>Psoriasis vulgaris</b>	<b>Atopische Dermatitis</b>	<b>Netherton Syndrom</b>
- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ
- <b>Str. granulosum</b> zytoplasmatisch, vereinzelt auch perizellulär in 1-2 Schichten	- <b>obere Epidermis</b> abgeschwächtes oder kein Signal, stellenweise Regionen mit etwas stärkerer Anfärbung „patchy“	- <b>Str. granulosum</b> in 4 von 6 Häuten zytoplasmatische Anfärbung in 2-3 Schichten (wie Normalhaut), 2 Häute nur sehr schwaches Signal	- <b>obere Epidermis</b> negativ, vereinzelt flauere unspezifische Bande
- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schichten</b> 9 Häute negativ, 1 Haut diffus positiv	- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schichten</b> negativ
- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ

## LEKTI

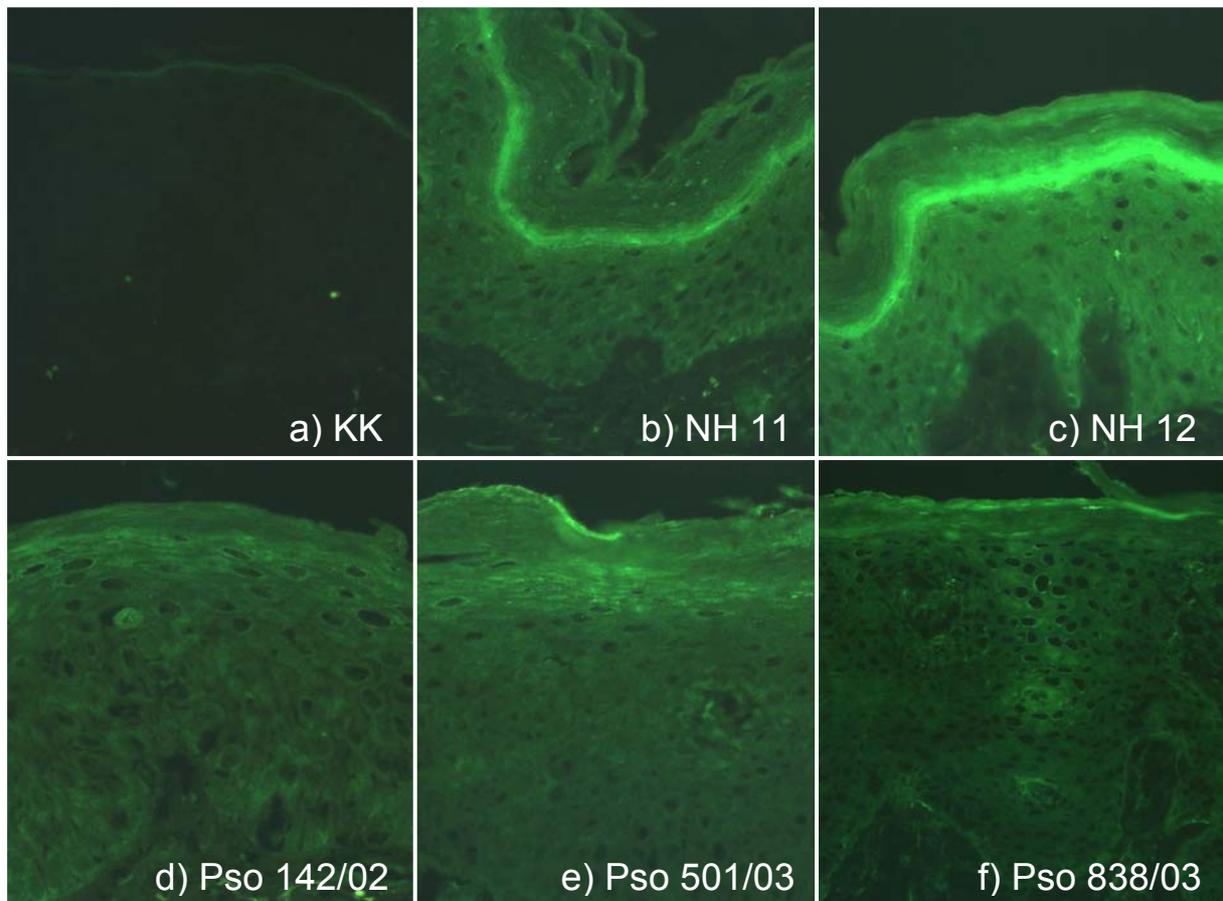


Abb. 3.1 a)-f): Darstellung von LEKTI (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 40)
- b) LEKTI in Normalhaut (Nr. 11): Signal diffus zytoplasmatisch in 1-2 Schichten im Stratum granulosum (x 40)
- c) LEKTI in Normalhaut (Nr. 12): Signal diffus zytoplasmatisch in 1-2 Schichten im Stratum granulosum (x 40)
- d) LEKTI bei Psoriasis vulgaris (Nr. 142/02): schwaches Signal zytoplasmatisch in 3-4 Schichten in der oberen Epidermis (x 40)
- e) LEKTI bei Psoriasis vulgaris (Nr. 501/03): stellenweise schwaches Signal zytoplasmatisch in 3-4 Schichten in der oberen Epidermis (x 40)
- f) LEKTI bei Psoriasis vulgaris (Nr. 838/03): stellenweise schwaches Signal diffus zytoplasmatisch in 3-4 Schichten in der oberen Epidermis und in suprabasalen Schichten (x 40)

## LEKTI

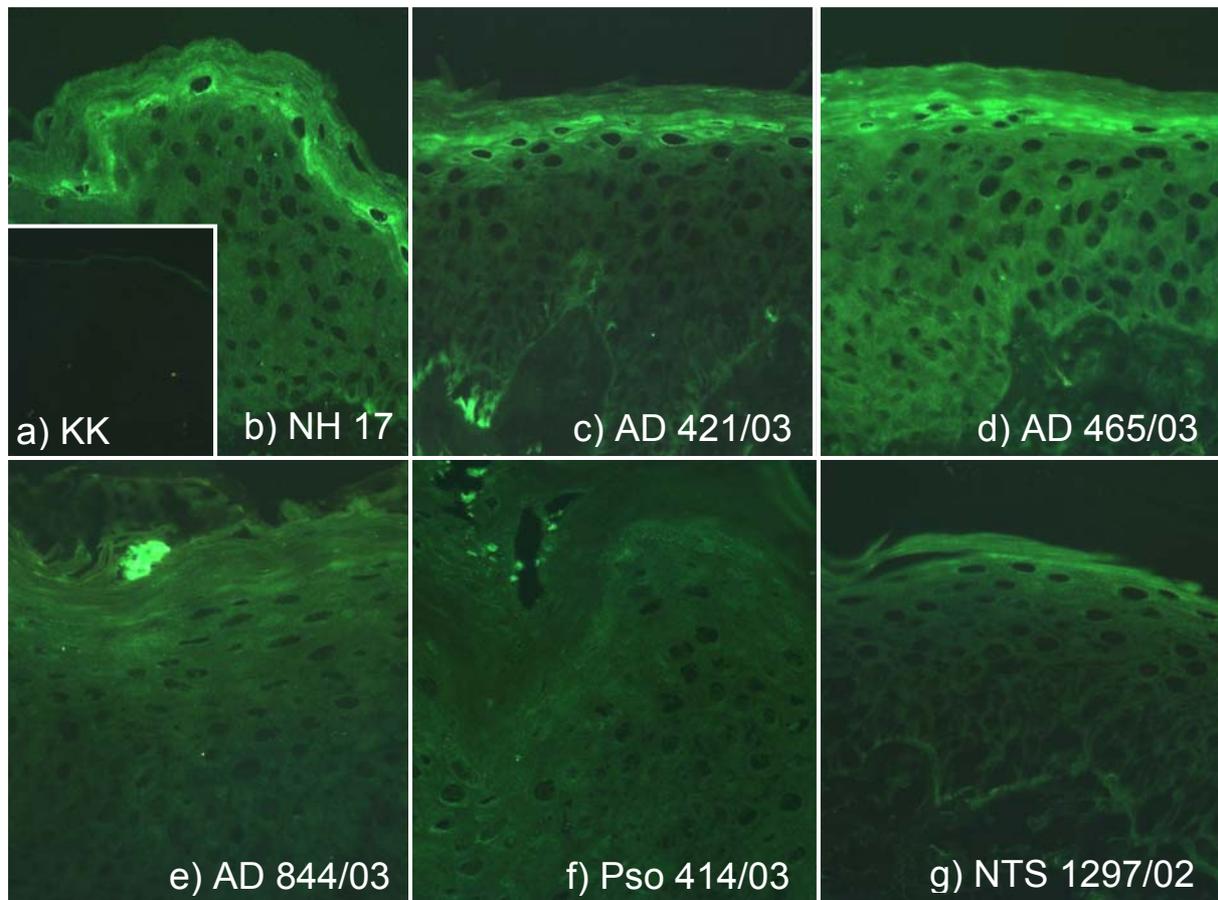


Abb. 3.2 a)-g): Darstellung von LEKTI (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 40)
- b) LEKTI in Normalhaut (Nr. 17): Signal diffus zytoplasmatisch in 1-2 Schichten im Stratum granulosum (x 40)
- c) LEKTI bei atopischer Dermatitis (Nr. 421/03): Signal zytoplasmatisch in 2-3 Schichten im Stratum granulosum (x 40)
- d) LEKTI bei atopischer Dermatitis (Nr. 142/02): Signal zytoplasmatisch in 2-3 Schichten im Stratum granulosum (x 40)
- e) LEKTI bei atopischer Dermatitis (Nr. 844/03): sehr schwaches Signal am Übergang von Stratum granulosum zu Stratum corneum (x 40)
- f) LEKTI bei Psoriasis vulgaris (Nr. 414/03): sehr schwaches diffuses Signal am Übergang von Stratum granulosum zu Stratum corneum (x 40)
- g) LEKTI beim Netherton Syndrom (Nr. 12974/03): kein Signal in der Epidermis, unspezifische Anfärbung des Stratum corneum (x 40)

### **3.3 Immunhistochemische Darstellung von Elafin**

#### **3.3.1 Immunhistochemische Darstellung von Elafin in Normalhaut**

In keiner der untersuchten Normalhäuten zeigt sich ein signifikantes Elafin-Signal (Raghunath *et al.*, 2004).

Die Kontrolle Normalhaut 15 bestätigt dieses Ergebnis.

#### **3.3.2 Immunhistochemische Darstellung von Elafin bei Psoriasis vulgaris**

In psoriatischer Haut zeigt sich ein fein perizelluläres Elafin-Signal in ungefähr 5 Schichten der oberen Epidermis (Raghunath *et al.*, 2004).

Die Kontrolle Psoriasisishaut 1115/03 bestätigt dieses Ergebnis.

### 3.3.3 Immunhistochemische Darstellung von Elafin bei atopischer Dermatitis

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis zeigt sich in 3 von 6 Häuten kein Elafin-Signal in der Epidermis, ähnlich wie bei Normalhaut. In den restlichen 3 Häuten sind im Stratum granulosum 1-2, bzw. 3-4 Schichten perizellulär angefärbt. Die Anfärbung dieser Häute gleicht der Psoriasis vulgaris. Eine Haut zeigt zudem eine diffuse Anfärbung im Stratum corneum (Tab. 3.4).

Tabelle 3.4: Immunhistochemische Färbung von Elafin bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
1661/99	-	+ 1-2 Schichten perizellulär	-	-
1854/99	-	-	-	-
524/00	-	flaue Bande	-	-
421/03	-	+ 1-2 Schichten perizellulär	-	-
465/03	-	-	-	-
844/03	+ diffuse Anfärbung	+ 3-4 Schichten perizellulär	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>5 von 6 Häuten negativ, 1 Haut diffus angefärbt</b>	<b>3 von 6 Häuten negativ/flaue Bande, 3 Häute perizelluläre Anfärbung</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>

### 3.3.4 Immunhistochemische Darstellung von Elafin beim Netherton Syndrom

Bei Patienten mit Netherton Syndrom zeigt sich eine leichte Anfärbung von Elafin im Stratum corneum und ein bis zu 6 Schichten breites, perizelluläres Elafin Signal in der oberen Epidermis (Raghunath *et al.*, 2004).

Die Kontrollen Nethertonhaut 429/00 und 1297/03 bestätigen dieses Ergebnis.

### 3.3.5 Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Elafin

Tabelle 3.5: Immunhistochemische Färbungen mit Elafin

<b>Normalhaut</b>	<b>Psoriasis vulgaris</b>	<b>Atopische Dermatitis</b>	<b>Netherton Syndrom</b>
- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> leichte Anfärbung
- <b>Str. granulosum</b> negativ	- <b>obere Epidermis</b> perizellulär in bis zu 5 Schichten	- <b>Str. granulosum</b> 3 der 6 Häute negativ, 3 Häute perizellulär in 1-4 Schichten angefärbt	- <b>obere Epidermis</b> perizellulär bis zu 6 Schichten
- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schichten</b> negativ	- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schichten</b> negativ
- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ

## Elafin

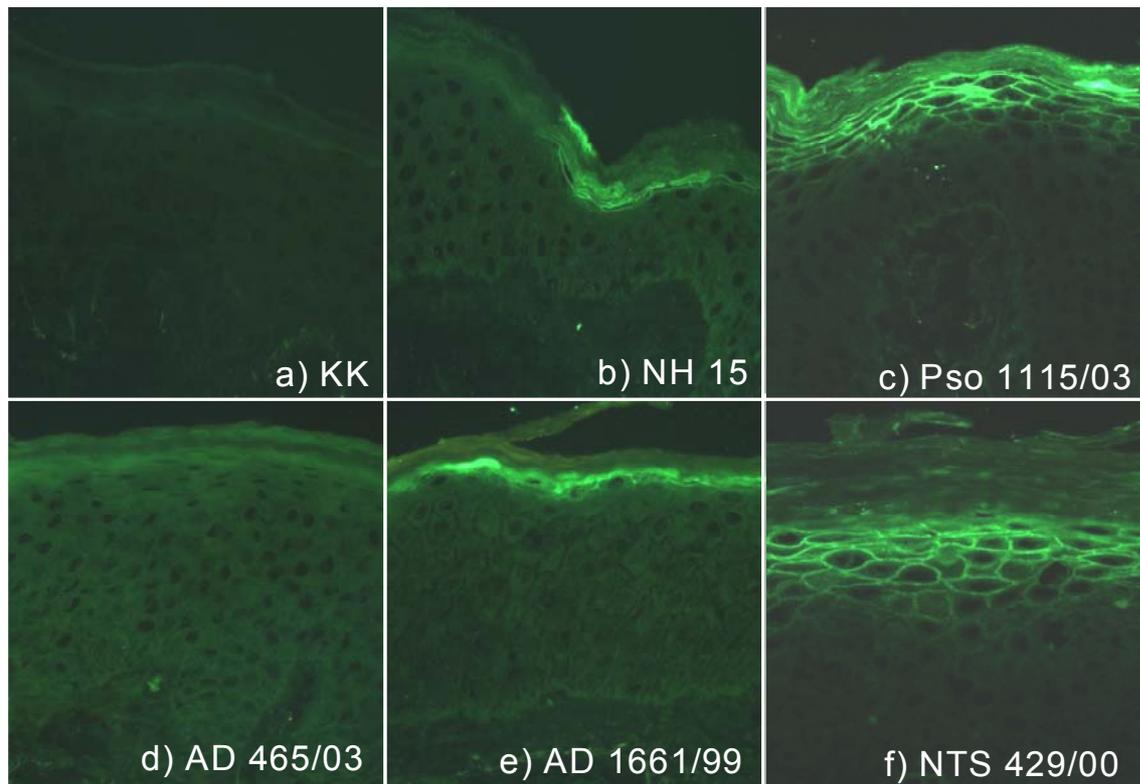


Abb. 3.3 a)-f): Darstellung von Elafin (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 40)
- b) Elafin in Normalhaut (Nr. 15): unspezifische Anfärbung an einer Stelle im Stratum corneum, sonst kein Signal (x 40)
- c) Elafin bei Psoriasis vulgaris (Nr. 1115/03): diffuses Signal im Stratum corneum, ca. 5 Schichten in der oberen Epidermis fein perizellulär (x 40)
- d) Elafin bei atopischer Dermatitis (Nr. 465/03): kein Signal (x 40)
- e) Elafin bei atopischer Dermatitis (Nr. 1661/99): 1-2 Schichten perizellulär im Stratum granulosum (x 40)
- f) Elafin beim Netherton Syndrom (Nr. 429/00): bis zu 6 Schichten breites Signal in der oberen Epidermis (x 40)

### 3.4 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2

#### 3.4.1 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 in Normalhaut

In Normalhaut findet sich in allen Häuten (10 von 10) ein 2-4 Schichten umfassendes, fein perizelluläres PAI-2-Signal im Stratum granulosum (Tab. 3.6).

Tabelle 3.6: Immunhistochemische Färbung von PAI-2 in Normalhaut

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
6	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
7	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
10	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
11	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
12	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
13	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
14	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
15	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
16	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
17	-	+ perizellulär in 2-4 Schichten	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>	<b>10 von 10 Häuten perizellulär in 2-4 Schichten</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>

### 3.4.2 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 bei Psoriasis vulgaris

Bei Patienten mit Psoriasis vulgaris zeigt sich in 10 von 10 Häuten ein perizelluläres PAI-2-Signal im Stratum corneum und ein verbreitertes, 5-7 Schichten umfassendes Signal in der oberen Epidermis (Tab. 3.7).

Tabelle 3.7: Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit Psoriasis vulgaris

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale
1237/01	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
1594/01	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
62/02	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
142/02	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
414/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
501/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
838/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
866/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
1115/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
1116/03	+ perizellulär	+ fein perizellulär in 5-7 Schichten	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>10 von 10 Häuten perizellulär</b>	<b>10 von 10 Häuten fein perizellulär in 5-7 Schichten</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>

### 3.4.3 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 bei atopischer Dermatitis

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis zeigt sich in 5 von 6 Häuten ein ähnlicher Befund wie in Normalhaut: ein fein perizelluläres PAI-2-Signal im Stratum granulosum. Eine Haut zeigt ein perizelluläres Muster im Stratum corneum und ein verbreitertes PAI-2-Signal im Stratum granulosum (Tab. 3.8).

Tabelle 3.8: Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
1661/99	-	2-4 Schichten fein perizellulär	-	-
1854/99	-	2-4 Schichten fein perizellulär	-	-
524/00	-	2-4 Schichten fein perizellulär	-	-
421/03	-	2-4 Schichten fein perizellulär	-	-
465/03	-	2-4 Schichten fein perizellulär	-	-
844/03	+ perizellulär	5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>5 von 6 Häuten negativ 1 Haut perizellulär</b>	<b>5 von 6 Häuten fein perizellulär in 2-4 Schichten, 1 Haut verbreitert</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>

### 3.4.4 Immunhistochemische Darstellung von PAI-2 beim Netherton Syndrom

In der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom zeigt sich ein ähnlicher Befund wie bei Psoriasis vulgaris: das Stratum corneum zeigt eine positive Anfärbung für PAI-2 und bei 5 von 6 Häuten findet sich ein verbreitetes perizelluläres Muster über 5-7 Schichten in der oberen Epidermis (Tab. 3.9).

Tabelle 3.9: Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit Netherton Syndrom

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale
429/00	+ und Parakeratose	+ 5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
1324/00	(+) größtenteils abgeschuppt	+ 3-4 Schichten fein perizellulär	-	-
1297/02	+	+ 5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
1381/02	+	+ 5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
1382/02	+	+ 5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
934/03	+	+ 5-7 Schichten fein perizellulär	-	-
<b>Insgesamt</b>	<b>6 von 6 Häuten positiv</b>	<b>5 von 6 Häuten verbreitert fein perizellulär in 5-7 Schichten, 1 Haut wie Normalhaut</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>

### 3.4.5 Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit PAI-2

Tabelle 3.10: Immunhistochemische Färbungen mit PAI-2

<b>Normalhaut</b>	<b>Psoriasis vulgaris</b>	<b>Atopische Dermatitis</b>	<b>Netherton Syndrom</b>
- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> perizellulär	- <b>Str. corneum</b> 5 von 6 Häuten negativ (wie Normalhaut), 1 Haut perizellulär	- <b>Str. corneum</b> positiv
- <b>Str. granulosum</b> perizellulär in 2-4 Schichten	- <b>obere Epidermis</b> verbreitert fein perizellulär in 5-7 Schichten	- <b>Str. granulosum</b> 5 von 6 Häuten perizellulär in 2-4 Schichten (wie Normalhaut), 1 Haut verbreitert	- <b>obere Epidermis</b> 5 von 6 Häuten verbreitert perizellulär in 5-7 Schichten, 1 Haut wie Normalhaut
- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schicht</b> negativ	- <b>Str. spinosum</b> negativ	- <b>suprabasale Schicht</b> negativ
- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ	- <b>Str. basale</b> negativ

## PAI-2

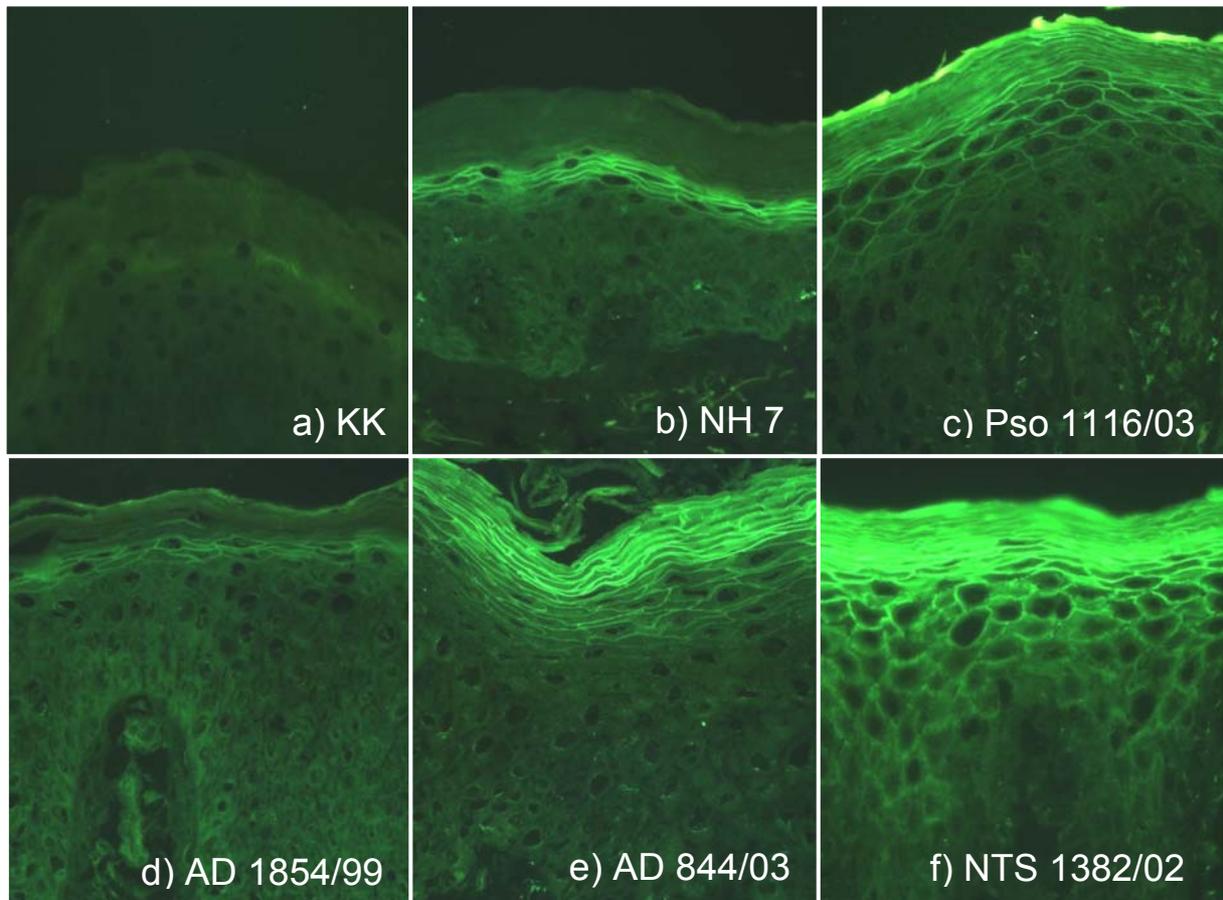


Abb. 3.4 a)-f) Darstellung von PAI-2 (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 40)
- b) PAI-2 in Normalhaut (Nr. 7): Signal im Stratum granulosum perizellulär in 2-4 Schichten (x 40)
- c) PAI-2 bei Psoriasis vulgaris (Nr. 1116/03): Signal perizellulär im gesamten Stratum corneum, in der oberen Epidermis verbreitetes Signal in 5-7 Schichten (x 40)
- d) PAI-2 bei atopischer Dermatitis (Nr. 1854/99): Signal im Stratum granulosum perizellulär in 2-4 Schichten wie bei Normalhaut (x 40)
- e) PAI-2 bei atopischer Dermatitis (Nr. 844/03): Signal perizellulär im gesamten Stratum corneum, in der oberen Epidermis verbreitetes Signal in 5-7 Schichten, ähnlich wie Psoriasis vulgaris (x 40)
- f) PAI-2 beim Netherton Syndrom (Nr.1381/02): Signal positiv im gesamten Stratum corneum, in der oberen Epidermis verbreitetes Signal in 5-7 Schichten, Muster ähnelt der Psoriasis vulgaris (x 40)

### 3.5 Immunhistochemische Darstellung von Hurpin

#### 3.5.1 Immunhistochemische Darstellung von Hurpin in Normalhaut

In Normalhaut zeigt Hurpin eine diffuse Anfärbung im unteren Drittel des Stratum corneum, ein perizelluläres Muster im Stratum granulosum, in 5 von 10 Häuten im Stratum spinosum ein deutlich granuläres Signal an der Zellmembran (die restlichen 5 Häute sind negativ im Stratum spinosum) und basal eine randständig zytoplasmatische Anfärbung (Tab. 3.11).

Tabelle 3.11: Immunhistochemische Färbung von Hurpin in Normalhaut

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
2	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	(+) schwach fein perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
5	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ randständig zytoplasmatisch
6	(+) schwache diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ randständig zytoplasmatisch
7	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ fein perizellulär	(+) schwach granulär an der Zellmembran	+ randständig zytoplasmatisch
9	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ randständig zytoplasmatisch
10	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ randständig zytoplasmatisch
14	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ stellenweise perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
15	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ stellenweise perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
16	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ stellenweise perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
17	+ diffuse Anfärbung im unteren Drittel	+ stellenweise perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
<b>Insgesamt</b>	<b>10 von 10 Häuten diffuse Anfärbung im unteren Drittel</b>	<b>10 von 10 Häuten perizellulär</b>	<b>5 von 10 Häuten granulär an der Zellmembran; 5 Häute negativ</b>	<b>10 von 10 Häuten randständig zytoplasmatisch</b>

### 3.5.2 Immunhistochemische Darstellung von Hurpin bei Psoriasis vulgaris

Bei Patienten mit Psoriasis vulgaris findet sich im Stratum corneum ein lamellär-perizelluläres Hurpin-Signal. In der oberen Epidermis ist bei 6 von 9 Häuten kein Signal zu sehen, 3 Häute zeigen ein perizelluläres Muster. In den suprabasalen Schichten weist 1 Haut ein granuläres Muster entlang der Zellmembran auf, 8 Häute sind negativ. Das Stratum basale ist bei 7 von 9 Häuten zytoplasmatisch angefärbt, 2 Häute sind in dieser Schicht negativ (Tab. 3.12).

Tabelle 3.12: Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale
1594/01	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	+ zytoplasmatisch
62/02	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	+ perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ zytoplasmatisch
142/02	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	+ zytoplasmatisch
414/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	-
501/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	+ perizellulär	-	+ zytoplasmatisch
838/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	+ zytoplasmatisch
866/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	(+) schwach perizellulär	-	-
1115/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	+ zytoplasmatisch
1116/03	+ im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär	-	-	+ zytoplasmatisch
<b>Insgesamt</b>	<b>9 von 9 Häuten im gesamten Str. corneum perizellulär lamellär</b>	<b>6 von 9 Häuten negativ, 3 von 9 Häuten perizellulär</b>	<b>8 von 9 Häuten negativ, 1 Haut granulär an der Zellmembran</b>	<b>7 von 9 Häuten zytoplasmatisch, 2 Häute negativ</b>

### 3.5.3 Immunhistochemische Darstellung von Hurpin bei atopischer Dermatitis

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis zeigt sich im Stratum corneum eine lamelläre und im Stratum granulosum eine perizelluläre Anfärbung. 4 von 6 Häuten zeigen im Stratum spinosum ein perizelluläres Muster (2 sind negativ). Im Stratum basale weisen alle Häute ein randständig zytoplasmatisches Signal auf. Der Befund ähnelt insgesamt der Normalhaut (Tab. 3.13).

Tabelle 3.13: Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale
<b>1661/99</b>	(+) schwach lamellär im unteren Bereich	+ perizellulär	+ perizellulär	+ randständig zytoplasmatisch
<b>1854/99</b>	+ lamellär in gesamter Schicht	(+) schwach perizellulär	-	(+) randständig zytoplasmatisch
<b>524/00</b>	+ lamellär in gesamter Schicht	+ perizellulär	+ perizellulär	+ randständig zytoplasmatisch
<b>421/03</b>	+ lamellär in gesamter Schicht	+ perizellulär	+ perizellulär	+ randständig zytoplasmatisch
<b>465/03</b>	+ lamellär in gesamter Schicht	+ perizellulär	+ perizellulär	(+) randständig zytoplasmatisch
<b>844/03</b>	+ lamellär in gesamter Schicht	+ perizellulär	-	(+) randständig zytoplasmatisch
<b>Insgesamt</b>	<b>6 von 6 Häuten lamellär in gesamter Schicht</b>	<b>6 von 6 Häuten perizellulär</b>	<b>4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten randständig zytoplasmatisch</b>

### 3.5.4 Immunhistochemische Darstellung von Hurpin beim Netherton Syndrom

Bei Patienten mit Netherton Syndrom zeigt Hurpin eine positive Anfärbung im Stratum corneum. In der oberen Epidermis sind 4 von 6 Häuten perizellulär angefärbt, die restlichen 2 sind negativ. 5 der 6 Häute zeigen kein Signal in den suprabasalen Schichten, nur 1 Haut weist ein perizelluläres Muster auf. Das Stratum basale zeigt ein randständig zytoplasmatisches Muster (Tab. 3.14).

Tabelle 3.14: Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit Netherton Syndrom

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale
429/00	+ lamellär im gesamten Str. corneum	-	-	(+) randständig zytoplasmatisch
1324/00	+ lamellär im gesamten Str. corneum	+ perizellulär	+ perizellulär	+ randständig zytoplasmatisch
1297/02	+ lamellär im gesamten Str. corneum	+ perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
1381/02	+ schwach im gesamten Str. corneum	+ perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
1382/02	+ lamellär im gesamten Str. corneum	+ perizellulär	-	+ randständig zytoplasmatisch
934/03* * schwache Färbung	(+) schwaches Signal	-	-	+ randständig zytoplasmatisch
<b>Insgesamt</b>	<b>6 von 6 Häuten positiv</b>	<b>4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</b>	<b>5 von 6 Häuten negativ, 1 Haut perizellulär</b>	<b>6 von 6 Häuten randständig zytoplasmatisch</b>

### 3.5.5 Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Hurpin

Tabelle 3.15: Immunhistochemische Färbungen mit Hurpin

<b>Normalhaut</b>	<b>Psoriasis vulgaris</b>	<b>Atopische Dermatitis</b>	<b>Netherton Syndrom</b>
<p>- <b>Str. corneum</b> diffuse Anfärbung im unteren Drittel</p> <p>- <b>Str. granulosum</b> perizellulär</p> <p>- <b>Str. spinosum</b> 5 der 10 Häute granulär an der Zellmembran, 5 Häute negativ</p> <p>- <b>Str. basale</b> randständig zytoplasmatisch</p>	<p>- <b>Str. corneum</b> perizellulär lamellär</p> <p>- <b>obere Epidermis</b> 6 von 9 Häuten negativ, 3 Häute perizellulär</p> <p>- <b>suprabasale Schichten</b> 8 der 9 Häute negativ, 1 Haut granulär an der Zellmembran</p> <p>- <b>Str. basale</b> 7 von 9 Häuten zytoplasmatisch, 2 Häute negativ</p>	<p>- <b>Str. corneum</b> lamellär in gesamter Schicht</p> <p>- <b>Str. granulosum</b> perizellulär</p> <p>- <b>Str. spinosum</b> 4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</p> <p>- <b>Str. basale</b> randständig zytoplasmatisch</p>	<p>- <b>Str. corneum</b> positiv</p> <p>- <b>obere Epidermis</b> 4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</p> <p>- <b>suprabasale Schichten</b> 5 von 6 Häuten negativ, 1 Haut perizellulär</p> <p>- <b>Str. basale</b> randständig zytoplasmatisch</p>

## Hurpin

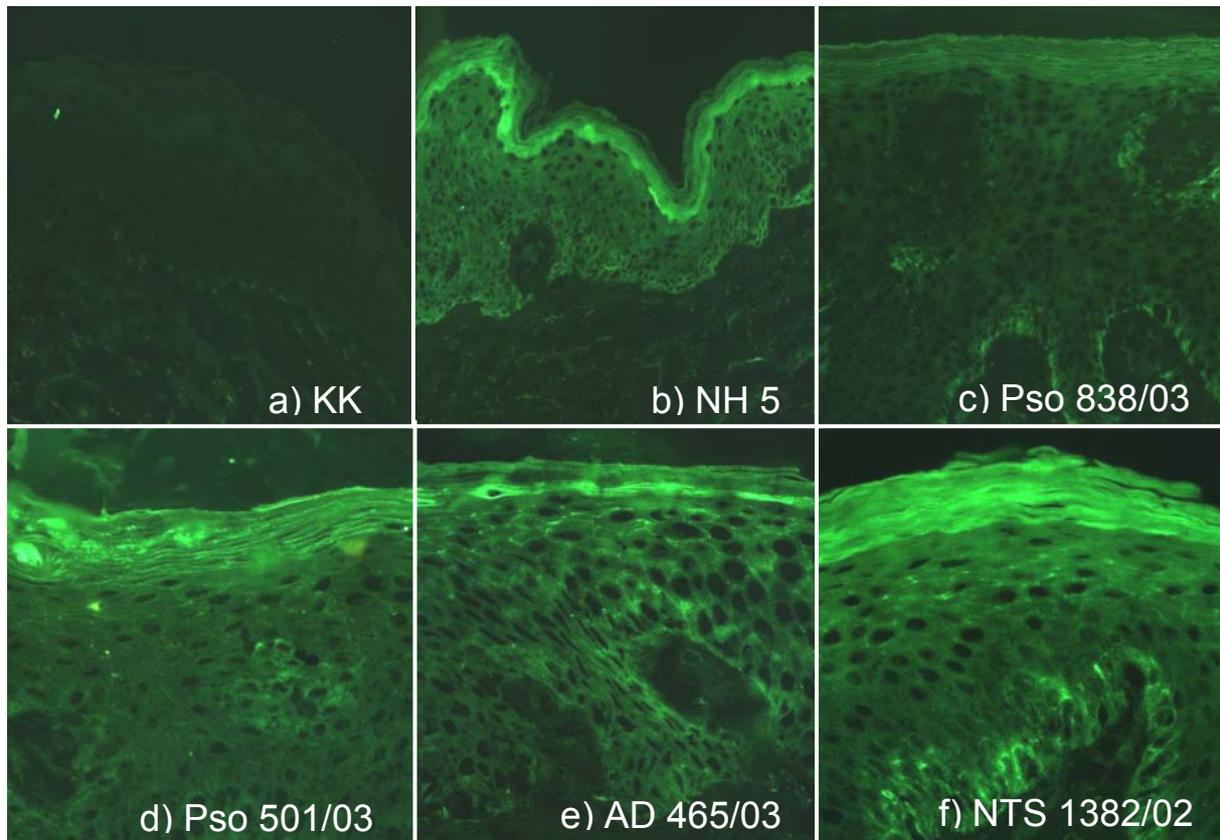


Abb. 3.5 a)-f) Darstellung von Hurpin (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 20)
- b) Hurpin in Normalhaut (Nr. 5): Signal diffus im untere Drittel des Stratum corneum, fein perizellulär im Stratum granulosum, granulär an der Zellmembran im Stratum spinosum und randständig zytoplasmatisch im Stratum basale (x 20)
- c) Hurpin bei Psoriasis vulgaris (Nr. 838/03): Signal perizellulär lamellär im gesamtem Stratum corneum, basal zytoplasmatisch (x 20)
- d) Hurpin bei Psoriasis vulgaris (Nr. 501/03): Signal perizellulär lamellär im gesamten Stratum corneum, obere Epidermis perizellulär, basal zytoplasmatisches Muster (x 40)
- e) Hurpin bei atopischer Dermatitis (Nr. 465/00): Signal lamellär im Stratum corneum, perizellulär im Stratum granulosum und im Stratum spinosum, basal schwach randständig zytoplasmatisch (x 40)
- f) Hurpin beim Netherton Syndrom (Nr. 1382/02): Signal lamellär im Stratum corneum, perizellulär in der oberen Epidermis und randständig zytoplasmatisch im Stratum basale (x 40)

### 3.6 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin

#### 3.6.1 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin in Normalhaut

In Normalhaut zeigt Bomapin ein 2-3 Schichten umfassendes Signal im Stratum granulosum, im Stratum spinosum findet sich ein schwach granuläres Muster entlang der Zellmembran und das Stratum basale ist stark zytoplasmatisch angefärbt. Die Zellkerne sind in allen Schichten angefärbt (Tab. 3.16).

Tabelle 3.16: Immunhistochemische Färbung von Bomapin in Normalhaut

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale	Sonstiges
6	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
7	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
10	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
11	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
12	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
13	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
14	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
15	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
16	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
17	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
<b>Insgesamt</b>	<b>10 von 10 Häuten negativ</b>	<b>10 von 10 Häuten 2-3 Schichten fein perizellulär</b>	<b>10 von 10 Häuten schwach granulär an der Zellmembran</b>	<b>10 von 10 Häuten stark zytoplasmatisch</b>	<b>bei 10 von 10 Häuten Zellkerne angefärbt</b>

### 3.6.2 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin bei Psoriasis vulgaris

In Häuten von Patienten mit Psoriasis vulgaris sind im Stratum corneum die Parakeratosen angefärbt und das Bomapin-Muster in der oberen Epidermis ist verbreitert: 6-7 Schichten zeigen eine perizelluläre Anfärbung. Ansonsten gleicht die Anfärbung der Normalhaut (Tab. 3.17).

Tabelle 3.17: Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale	Sonstiges
1237/01	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1594/01	Nicht beurteilbar	Nicht beurteilbar	Nicht beurteilbar	Nicht beurteilbar	Nicht beurteilbar
62/02	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
142/02	- Parakeratose +	+ 4-5 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
414/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
501/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
838/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
866/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1115/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1116/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
<b>Insgesamt</b>	<b>9 von 9 Häuten negativ, Parakeratosen positiv</b>	<b>9 von 9 Häuten 4-7 Schichten perizellulär</b>	<b>9 von 9 Häuten schwach granulär an der Zellmembran</b>	<b>9 von 9 Häuten stark zytoplasmatisch</b>	<b>bei 9 von 9 Häuten Zellkerne angefärbt</b>

### 3.6.3 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin bei atopischer Dermatitis

Bei 4 von 6 Patienten mit atopischer Dermatitis gleicht das Bomapin-Muster in der Epidermis der Normalhaut: das Signal umfasst 2-3 Schichten im Stratum granulosum. Im Stratum spinosum findet sich ein schwach granuläres Muster entlang der Zellmembran und das Stratum basale ist stark zytoplasmatisch angefärbt. Die Zellkerne sind in allen Schichten angefärbt.

2 Häute ähneln in der Bomapin-Anfärbung der Psoriasis vulgaris und weisen ein verbreitertes perizelluläres Signal über 6-7 Schichten im Stratum granulosum auf (Tab. 3.18).

Tabelle 3.18: Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Hautnummer	Str. corneum	Str. granulosum	Str. spinosum	Str. basale	Sonstiges
1661/99	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1854/99	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
524/00	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
421/03	-	+ 5-6 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
465/03	-	+ 2-3 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
844/03	-	+ 5-6 Schichten fein perizellulär	+ schwach granulär an der Zellmembran	++ zytoplasmatisch	Zellkerne +
<b>Insgesamt</b>	<b>6 von 6 Häuten negativ</b>	<b>4 von 6 Häuten in 2-3 Schichten fein perizellulär, 2 von 6 Häuten verbreitert in 5- 6 Schichten fein perizellulär</b>	<b>6 von 6 Häuten schwach granulär an der Zellmembran</b>	<b>6 von 6 Häuten stark zytoplasmatisch</b>	<b>bei 6 von 6 Häuten (100%) Zellkerne angefärbt</b>

### 3.6.4 Immunhistochemische Darstellung von Bomapin beim Netherton Syndrom

Beim Netherton Syndrom zeigt Bomapin wie bei Psoriasis vulgaris eine Anfärbung der Parakeratose im Stratum corneum und bei 3 von 6 Häuten eine Verbreiterung des Signals in der oberen Epidermis über 6-7 Schichten. Bei 4 von 6 Häuten zeigt sich in den suprabasalen Schichten ein granuläres Muster entlang der Zellmembran. Das Stratum basale ist zytoplasmatisch angefärbt. Auch die Zellkerne geben ein positives Bomapin-Signal (Tab. 3.19).

Tabelle 3.19: Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit Netherton Syndrom

Hautnummer	Str. corneum	Obere Epidermis	Suprabasale Schicht	Str. basale	Sonstiges
429/00	- Parakeratose +	-	-	(+) schwach zytoplasmatisch	Zellkerne +
1324/00	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	(+) schwach zytoplasmatisch	Zellkerne +
1297/02	Str. corneum nicht beurteilbar	+ 1-2 Schichten fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1381/02	- Parakeratose +	-	-	+ zytoplasmatisch	Zellkerne +
1382/02	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ zytoplasmatisch	Zellkerne +
934/03	- Parakeratose +	+ 6-7 Schichten fein perizellulär	+ granulär an der Zellmembran	+ zytoplasmatisch	Zellkerne +
<b>Insgesamt</b>	<b>5 von 5 Häuten negativ, Parakeratose positiv</b>	<b>4 von 6 Häuten perizellulär, 3 von 6 Häuten verbreitert über 6-7 Schichten, 2 Häute negativ</b>	<b>4 von 6 Häuten granulär an der Zellmembran, 2 Häute negativ</b>	<b>6 von 6 Häuten zytoplasmatisch</b>	<b>bei 6 von 6 Häuten Zellkerne angefärbt</b>

### 3.6.5 Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Bomapin

Tabelle 3.20: Immunhistochemische Färbungen mit Bomapin

<b>Normalhaut</b>	<b>Psoriasis vulgaris</b>	<b>Atopische Dermatitis</b>	<b>Netherton Syndrom</b>
- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ, Parakeratosen positiv	- <b>Str. corneum</b> negativ	- <b>Str. corneum</b> negativ, Parakeratosen positiv
- <b>Str. granulosum</b> 2-3 Schichten perizellulär	- <b>obere Epidermis</b> verbreitert 6-7 Schichten perizellulär	- <b>Str. granulosum</b> 4 von 6 Häuten wie Normalhaut: 2-3 Schichten perizellulär, 2 Häute wie bei Psoriasis vulgaris: verbreitert 6-7 Schichten perizellulär	- <b>obere Epidermis</b> 4 von 6 Häuten fein perizellulär, davon 3 Häute verbreitert über 6-7 Schichten, 2 Häute negativ
- <b>Str. spinosum</b> schwach granulär an der Zellmembran	- <b>suprabasale Schicht</b> schwach granulär an der Zellmembran	- <b>Str. spinosum</b> schwach granulär an der Zellmembran	- <b>suprabasale Schicht</b> 4 von 6 Häuten granulär an der Zellmembran, 2 Häute negativ
- <b>Str. basale</b> stark zytoplasmatisch	- <b>Str. basale</b> stark zytoplasmatisch	- <b>Str. basale</b> stark zytoplasmatisch	- <b>Str. basale</b> zytoplasmatisch
- Zellkerne angefärbt	- Zellkerne angefärbt	- Zellkerne angefärbt	- Zellkerne angefärbt

## Bomapin

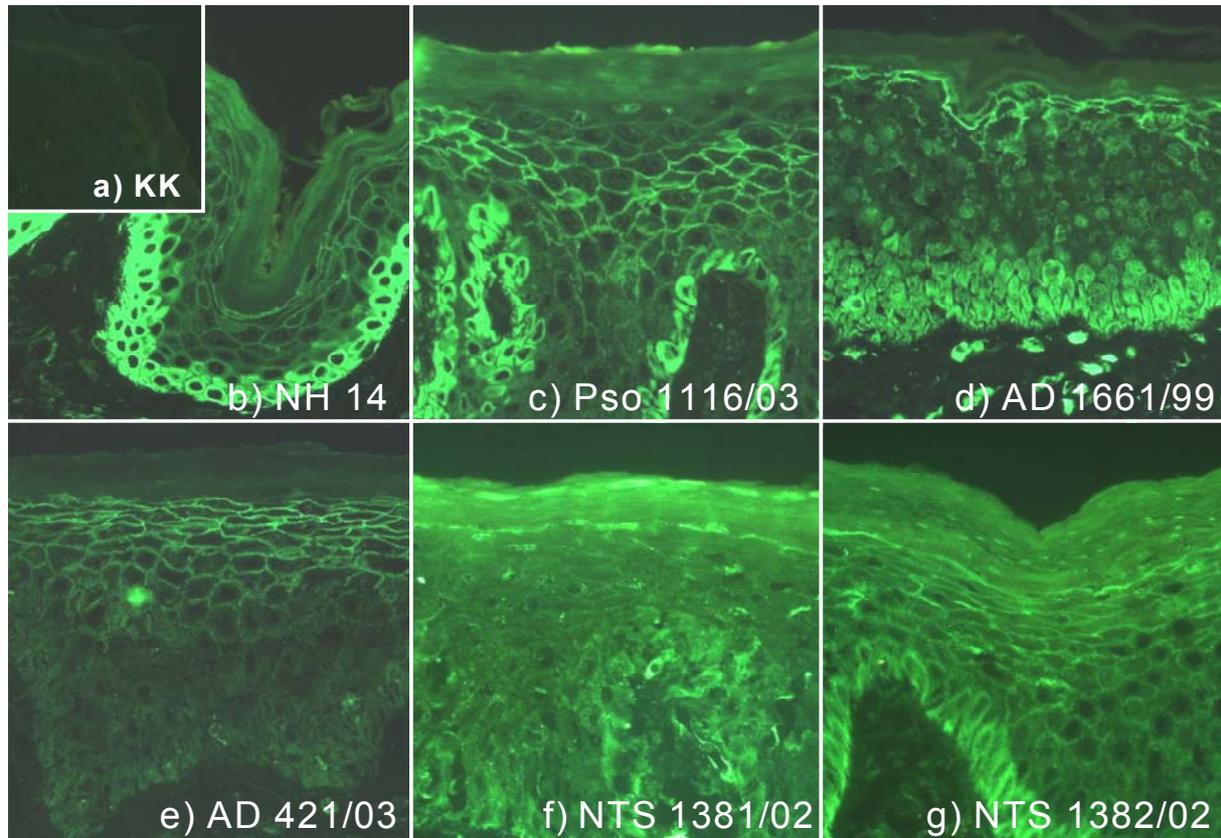


Abb. 3.6 a)-g): Darstellung von Bomapin (Immunfluoreszenz)

- a) Normalhaut – Konjugatkontrolle (x 40)
- b) Bomapin in Normalhaut (Nr. 14): Signal im Stratum granulosum 2-3 Schichten fein perizellulär, schwach granulär an der Zellmembran im Stratum spinosum, stark zytoplasmatisch im Stratum basale (x 40)
- c) Bomapin bei Psoriasis vulgaris (Nr. 1116/03): Parakeratose im Stratum corneum angefärbt, Signal in oberer Epidermis verbreitert auf 6-7 Schichten, suprabasal schwach granulär an der Zellmembran, Stratum basale stark zytoplasmatisch (x 40)
- d) Bomapin bei atopischer Dermatitis (Nr. 1661/99): Signal im Stratum granulosum in 2-3 Schichten fein perizellulär, Stratum spinosum fein granulär an der Zellmembran, Stratum basale zytoplasmatisch, Zellkerne angefärbt (x 40)
- e) Bomapin bei atopischer Dermatitis (Nr. 421/03): Signal im Stratum granulosum verbreitert in 2-3 Schichten fein perizellulär, Stratum spinosum fein granulär an der Zellmembran, Stratum basale zytoplasmatisch, Zellkerne angefärbt (x 40)
- f) Bomapin beim Netherton Syndrom (Nr. 1381/02): Parakeratose im Stratum corneum angefärbt, Signal in der oberen Epidermis und in den suprabasalen Schichten schwach bis negativ, Stratum basale zytoplasmatisch, Zellkerne angefärbt (x 40)
- g) Bomapin beim Netherton Syndrom (Nr. 1382/02): Parakeratose im Stratum corneum angefärbt, Signal in der oberen Epidermis verbreitert auf 6-7 Schichten fein perizellulär, suprabasale Schicht granulär an der Zellmembran, Stratum basale zytoplasmatisch, Zellkerne angefärbt (x 40)

## 4 Diskussion

### 4.1 Rekapitulation der Ergebnisse

Die Tabellen 4.1.1 bis 4.1.5 geben einen Überblick über die spezifischen Färbemuster bei Normalhaut, Psoriasis vulgaris, atopischer Dermatitis und Netherton Syndrom. Die Anzahl der im Rahmen dieser Arbeit gefärbten Häute ist jeweils in Klammern hinter der Diagnose angegeben.

Tabelle 4.1.1: Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von LEKTI

	Normalhaut (10)	Psoriasis vulgaris (10)	Atopische Dermatitis (6)	Netherton Syndrom (6)
<b>LEKTI</b>	<p><b>- <u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>Str. granulosum</u></b> zytoplasmatisch, vereinzelt auch perizellulär in 1-2 Schichten</p> <p><b>- <u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p><b>- <u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>obere Epidermis</u></b> stark abgeschwächtes oder kein Signal, dabei stellenweise Regionen mit schwacher Anfärbung, „patchy“</p> <p><b>- <u>suprabasale Schicht</u></b> 9 Häute negativ, 1 Haut diffus schwach positiv</p> <p><b>- <u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p><b>- <u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>Str. granulosum</u></b> in 4 von 6 Häuten zytoplasmatische Anfärbung in 2-3 Schichten (wie Normalhaut), 2 Häute nur sehr schwaches Signal</p> <p><b>- <u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p><b>- <u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>obere Epidermis</u></b> negativ, vereinzelt flauere unspezifische Bande</p> <p><b>- <u>suprabasale Schicht</u></b> negativ</p> <p><b>- <u>Str. basale</u></b> negativ</p>

Tabelle 4.1.2: Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Elafin

	Normalhaut (10)	Psoriasis vulgaris (10)	Atopische Dermatitis (6)	Netherton Syndrom (6)
<b>Elafin</b>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> perizellulär</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> verbreitert fein perizellulär in 5-7 Schichten</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> 5 von 6 Häuten negativ, 1 Haut diffus angefärbt</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> 3 von 6 Häuten negativ/flaue Bande, 3 Häute perizelluläre Anfärbung in 1-4 Schichten</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> positiv</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> perizellulär bis zu 6 Schichten</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>

Tabelle 4.1.3: Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von PAI-2

	Normalhaut (10)	Psoriasis vulgaris (10)	Atopische Dermatitis (6)	Netherton Syndrom (6)
<b>PAI-2</b>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> perizellulär in 2-4 Schichten</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> perizellulär</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> verbreitert fein perizellulär in 5-7 Schichten</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> 5 von 6 Häuten negativ (wie Normalhaut), 1 Haut perizellulär</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> 5 von 6 Häuten perizellulär in 2-4 Schichten (wie Normalhaut), 1 Haut verbreitert</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> positiv</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> 5 von 6 Häuten verbreitert perizellulär in 5-7 Schichten, 1 Haut wie Normalhaut</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> negativ</p>

Tabelle 4.1.4: Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Hurpin

	Normalhaut (10)	Psoriasis vulgaris (9)	Atopische Dermatitis (6)	Netherton Syndrom (6)
<b>Hurpin</b>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> diffuse Anfärbung im unteren Drittel</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> perizellulär</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> 5 der 10 Häute granulär an der Zellmembran, 5 Häute negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> randständig zytoplasmatisch</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> perizellulär lamellär</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> 6 von 9 Häuten negativ, 3 Häute perizellulär</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> 8 der 9 Häute negativ, 1 Haut granulär an der Zellmembran</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> 7 von 9 Häuten zytoplasmatisch, 2 Häute negativ</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> lamellär in gesamter Schicht</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> perizellulär</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> 4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> randständig zytoplasmatisch</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> positiv</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> 4 von 6 Häuten perizellulär, 2 Häute negativ</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> 5 von 6 Häuten negativ, 1 Haut perizellulär</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> randständig zytoplasmatisch</p>

Tabelle 4.1.5: Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Bomapin

	Normalhaut (10)	Psoriasis vulgaris (9)	Atopische Dermatitis (6)	Netherton Syndrom (6)
<b>Bomapin</b>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> 2-3 Schichten perizellulär</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> schwach granulär an der Zellmembran</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> stark zytoplasmatisch</p> <p>- Zellkerne angefärbt</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ, Parakeratosen positiv</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> verbreitert 6-7 Schichten perizellulär</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> schwach granulär an der Zellmembran</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> stark zytoplasmatisch</p> <p>- Zellkerne angefärbt</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ</p> <p>- <b><u>Str. granulosum</u></b> 4 von 6 Häuten in 2-3 Schichten perizellulär (wie Normalhaut) 2 Häute verbreitert 6-7 Schichten perizellulär (wie bei Psoriasis vulgaris)</p> <p>- <b><u>Str. spinosum</u></b> schwach granulär an der Zellmembran</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> stark zytoplasmatisch</p> <p>- Zellkerne angefärbt</p>	<p>- <b><u>Str. corneum</u></b> negativ, Parakeratosen positiv</p> <p>- <b><u>obere Epidermis</u></b> 4 von 6 Häuten fein perizellulär, davon 3 Häute verbreitert über 6-7 Schichten, 2 Häute negativ</p> <p>- <b><u>suprabasale Schicht</u></b> 4 von 6 Häuten granulär an der Zellmembran, 2 Häute negativ</p> <p>- <b><u>Str. basale</u></b> zytoplasmatisch</p> <p>- Zellkerne angefärbt</p>

## 4.2 Interpretation der Ergebnisse

### 4.2.1 Expression von LEKTI

LEKTI ist ein neuartiger, aus 15 inhibitorischen Domänen aufgebauter Serin-Protease-Inhibitor, der vor allem in der Haut, in der Mukosa der Atemwege und des oberen Gastrointestinaltrakts, im Thymus und in Vagina und Uterus nachgewiesen wurde (Mägert *et al.*, 1999 und 2002). LEKTI wird von SPINK5 auf Chromosom 5q32 kodiert. Verschiedene autosomal rezessive Mutationen in diesem Gen führen zu vorzeitigen Stop-Codons. Die vorzeitigen Stop-Codons weisen auf einen frühzeitigen Abbruch der Translation hin und haben einen LEKTI-Mangel, beziehungsweise das vollständige Fehlen des LEKTI-Proteins, zur Folge (Chavanas *et al.*, 2000). Dieser LEKTI-Mangel ist ursächlich für die klinische Ausprägung des Netherton Syndroms.

Ein wichtiges Modell zur Pathogenese des Netherton Syndroms berücksichtigt die vermutete verminderte Hemmung von Stratum corneum chymotrytischem Enzym (SCCE) bei LEKTI-Mangel. Vermehrte SCCE-Aktivität führt zu einer verstärkten Desquamation durch Spaltung von Desmogleinen und zu einer Entzündungsreaktion, bei der die Aktivierung von Interleukin 1 $\beta$  eine wichtige Rolle spielen könnte (Caubet *et al.*, 2004; Komatsu *et al.*, 2002; Nylander Lundqvist *et al.*, 1997).

Während LEKTI in gesunder Epidermis eine 1-2 Schichten umfassende, zytoplasmatische Verteilung im Stratum granulosum zeigt, fehlt das Protein in der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom oder es ist sehr deutlich reduziert. Raghunath und Mitarbeiter untersuchten Kryostatschnitte von 6 Patienten mit nachgewiesenen SPINK5-Mutationen. Beim Netherton Syndrom zeigte sich neben dem ausnahmslosen Fehlen bzw. der deutlichen Reduktion von LEKTI eine von der Normalhaut abweichende Expression weiterer epidermaler Proteine: während Transglutaminase 1 verstärkt exprimiert wird, ist die Transglutaminase 3-Expression deutlich vermindert; die Expression von Elafin und humanem  $\beta$ -Defensin ist jedoch erhöht (Raghunath *et al.*, 2004). In der vorliegenden Arbeit wurden bei weiteren Patienten Kontrollfärbungen mit LEKTI angefertigt und die oben angegebenen Ergebnisse in Bezug auf die Expression von LEKTI in Normalhaut und in Netherton-Epidermis bestätigt (Tab. 4.1.1).

Bei Psoriasis vulgaris zeigt sich eine sehr deutliche Reduktion (in zwei Fällen ein komplettes Fehlen) der LEKTI-Expression in der oberen Epidermis bei den 10 untersuchten Häuten. Eine Haut zeigt ein schwaches, diffus positives LEKTI-Signal in den suprabasalen

Schichten. Bei 5 der größtenteils negativ angefärbten Häuten fällt in der mikroskopischen Betrachtung auf, dass es stellenweise zu einer schwachen Signalgebung von LEKTI kommt: das Muster ist „patchy“. Histologen kennen das abschnittsweise Auftreten von Parakeratosen im Stratum corneum bei Psoriasis vulgaris und erklären dieses Phänomen mit einer periodisch verstärkt auftretenden Entzündung in der betroffenen Haut. Die wechselhafte und eher reduzierte Expression von LEKTI in psoriatischer Haut weist auf eine Involvierung von LEKTI in ein komplexes pathogenetisches Geschehen hin. Die verminderte Expression von LEKTI bei Psoriasis lässt vermuten, dass tryptische Enzyme der Epidermis wie SCCE und SCTE aufgrund schwächerer Inhibition eine verstärkte Aktivität aufweisen. Beide Enzyme spielen bei der Desquamation und kutanen Entzündung eine wichtige Rolle (Caubet *et al.*, 2004; Ekholm *et al.*, 1999; Nylander Lundqvist *et al.*, 1997).

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Expression von LEKTI bei Psoriasis vulgaris und Netherton Syndrom sehr ähnlich ist. Die Untersuchung von SPINK5-Polymorphismen bei Psoriasispatienten wäre vor diesem Hintergrund eine wissenschaftlich interessante Fragestellung. Aufgrund der klinischen Ähnlichkeit zwischen dem schweren atopischen Ekzem und dem Netherton Syndrom ist man dieser Frage bereits bei Neurodermitispatienten nachgegangen (Walley *et al.*, 2001; s.u.).

Walley und Mitarbeiter berichteten 2001, dass bestimmte Polymorphismen im SPINK5-Gen mit Atopie, Asthma und Ekzemen assoziiert sind (Walley *et al.*, 2001). Ebenso stellten Kabesch *et al.* 2003 Assoziationen zwischen SPINK5-Mutationen und Asthma in einer großen Gruppe deutscher Kinder fest (Kabesch *et al.*, 2003). Um einen Eindruck von der immunhistochemischen Expression von LEKTI in der Epidermis von Patienten mit atopischer Dermatitis zu erhalten und um mögliche Ähnlichkeiten mit dem Netherton Syndrom festzustellen wurde die Haut von 6 Patienten mit atopischer Dermatitis gefärbt. Die Mehrheit der untersuchten Häute (4 von 6 Häuten) wies eine der Normalhaut entsprechende Expression von LEKTI auf. 2 von 6 Häuten (Nr. 1854/99 und Nr. 844/03) zeigten nur ein sehr schwaches LEKTI-Signal. An dieser Stelle ist einschränkend anzumerken, dass Haut Nr. 844/03 in den meisten Färbungen Ähnlichkeit mit psoriatischen Häuten zeigte, wahrscheinlich handelte es sich hier um eine schon lange bestehende atopische Dermatitis in chronischem Ekzemstadium. Die genetische Basis der atopischen Dermatitis ist komplex und involviert mit Sicherheit mehrere Loci, d.h. sie ist polygen. Aus diesem Grund ist gut vorstellbar, dass einige Patienten mit atopischer Dermatitis SPINK5-Polymorphismen aufweisen, die mit einer verminderten Expression von LEKTI in der Epidermis einhergehen. Um diese Vermutung zu erhärten sind weiterführende Untersuchungen mit größeren Patientenkollektiven notwendig.

Abschließend ist anzumerken, dass die Ergebnisse der von uns durchgeführten Färbungen größtenteils im Einklang mit den von Bitoun und Mitarbeitern in einer Arbeit von 2003 veröffentlichten Ergebnissen stehen (Bitoun *et al.*, 2003). Die Arbeitsgruppe färbte unter anderem Häute von Patienten mit Netherton Syndrom, Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis. Sie beschreiben ein Fehlen von LEKTI beim Netherton Syndrom; eine unregelmäßige Anfärbung mit einem Wechsel von Regionen verminderter, normaler und stärkerer Expression von LEKTI bei Psoriasis vulgaris und eine positive Anfärbung mit Abschwächungen in spongiotischen Arealen bei atopischer Dermatitis.

#### 4.2.2 Expression von Elafin

Der Serin-Protease-Inhibitor Elafin/SKALP ist in normaler Epidermis nicht nachweisbar (Pol *et al.*, 2003), er findet sich aber in der Mundschleimhaut, im Ösophagus und in der Vagina (Pfundt *et al.*, 1996). Die dermale Infiltration von Neutrophilen induziert die Expression von Elafin in der Epidermis: so zeigt sich zum Beispiel beim Morbus Beçet, Sweet Syndrom, Pyoderma gangraenosum und bei der kutanen allergischen Vaskulitis in der immunhistochemischen Färbung ein deutliches Elafin-Signal in der subcornealen Dermis (Tanaka *et al.*, 2000). In psoriatischer Haut, in verletzter Haut und in Hauttumoren wird Elafin ebenfalls suprabasal exprimiert. Elafin kann unter anderem von TNF- $\alpha$ , Interferon- $\gamma$ , UVB und Activator-protein 1 (AP1) induziert, beziehungsweise reguliert, werden (Pfundt *et al.*, 1996 und 2001; Schalkwijk *et al.*, 1999). Dies deutet darauf hin, dass Kompensationsmechanismen für zellulären Stress eine Rolle in der Regulation der Gen-Expression von Elafin spielen. Nicht-verhornende Epithelien wie Ösophagus und Vagina sind permanent mikrobiellen und entzündlichen Stimuli ausgesetzt, die Stresskompensationsmechanismen werden kontinuierlich benötigt. Diese Beobachtung könnte erklären, warum Elafin in diesen Geweben dauerhaft exprimiert wird. In der Epidermis kommt es jedoch erst unter pathologischen Umständen oder nach Verletzungen zu einer erhöhten Elafin-Expression (Schalkwijk *et al.*, 1999).

Während der Wundheilung sind Keratinozyten von aktivierten Neutrophilen umgeben, die Proteinase, wie Elastase und Proteinase 3 (beides Substrate von Elafin), sezernieren. (Pfundt *et al.*, 1996). Verletzungen der Epidermis führen binnen 24 Stunden zu vermehrter Elafin-Expression. Die Epidermis schützt sich auf diese Weise vor Proteinase, die sonst Strukturproteine und Adhäsionsmoleküle degradieren würden (Schalkwijk *et al.*, 1999). Auch die erhöhte Elafin-Expression bei Psoriasis könnte ein Schutzmechanismus vor Gewebsdestruktion durch, die Epidermis infiltrierende, neutrophile Granulozyten sein (Tanaka *et al.*, 2000). Eine weitere mögliche Erklärung für die erhöhte Elafin-Expression bei Psoriasis ist eine Dysregulation normalerweise nützlicher Stresskompensationsmechanismen. Interessanterweise senken Dithranol und Retinoide - zwei potente anti-psoriatische Medikamente - die Elafin-Expression (Pol *et al.*, 2003).

Bei Patienten mit Netherton Syndrom ist die Elafin-Expression ähnlich wie bei Psoriasis vulgaris erhöht. In der oberen Epidermis findet sich in bis zu 6 Schichten ein perizelluläres Signal. Auch zeigt sich eine leichte Anfärbung im Stratum corneum (Raghunath *et al.*, 2004). Elafin hat ebenso wie LEKTI eine SCCE-hemmende Funktion, diese ist jedoch nur relativ

schwach ausgeprägt (Franzke *et al.*, 1996). Die Hochregulation von Elafin in der Epidermis von Patienten mit Netherton Syndrom kann ein Hinweis darauf sein, dass Elafin ein Fehlen von LEKTI teilweise zu kompensieren vermag. Es ist auch möglich, dass Elafin allein im Rahmen der Entzündung hoch reguliert wird.

Die parallelen Expressionsmuster von LEKTI, Elafin, Transglutaminase 1 und Transglutaminase 3 bei Psoriasis vulgaris und beim Netherton Syndrom – LEKTI und Transglutaminase 3 vermindert; Elafin und Transglutaminase 1 erhöht (Raghunath *et al.*, 2004) – lassen vermuten, dass sich der Entzündungsprozess der beiden Erkrankungen, die beide mit starker Hyperproliferation und Desquamation von Keratinozyten einhergehen, sehr ähnelt.

Die Untersuchungen zu dieser Arbeit bestätigten die bereits von Raghunath et al. 2004 festgestellten Ergebnisse zur Expression von Elafin in Normalhaut, psoriatischer Haut und beim Netherton Syndrom (Tabelle 4.1.2). Zudem konnten wir nachweisen, dass Elafin in der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis in 3 von 6 Häuten ähnlich wie in Normalhaut nicht exprimiert wurde, bei weiteren 3 Häuten zeigte sich eine schwache Elafin-Expression über 1-2 Schichten (bzw. 1-4 Schichten in Haut Nr. 844/03) im Stratum granulosum. Möglicherweise ist die unterschiedliche Ausprägung der Elafin-Expression in diesen Fällen durch unterschiedliche Ekzemstadien oder Krankheitsaktivität der Haut zu erklären.

### 4.2.3 Expression von PAI-2

PAI-2 (plasminogen activator inhibitor-2) ist ein spezifischer Inhibitor von urokinase Plasminogen Aktivator (uPA) und schützt darüber hinaus Zellen vor TNF- $\alpha$ -vermittelter Apoptose. PAI-2 wird in den „cornified cell envelope“ eingebaut und spielt eine Rolle in der Differenzierung epithelialer Zellen (Hibino *et al.*, 1999; Dickinson *et al.*, 1995; Jensen *et al.*, 1995).

Im Gegensatz zu aktivem PAI-2, das vor allem perizellulär in der oberen Epidermis nachweisbar ist, findet sich gespaltenes, inaktiviertes PAI-2 (PAI-2r) intrazellulär in größeren Mengen in Zellen des Stratum basale, ebenso wie in den differenzierten Zellen des Haarfollikelinfundibulums und in der äußeren Haarwurzelscheide. Der in diesen Experimenten verwendete Antikörper von America diagnostica erkennt nur die aktive Form von PAI-2 (Risse *et al.*, 2000).

In gesunder Epidermis konnten wir in der immunhistochemischen Färbung ein 2-4 Schichten umfassendes perizelluläres PAI-2 Signal im Stratum granulosum nachweisen. Dieses Signal ist in psoriatischer Haut auf 5-7 Schichten verbreitert, zudem zeigt sich ein perizelluläres Muster im Stratum corneum mit Anfärbung der Parakeratose. Atopische Dermatitis entspricht bei 5 von 6 Häuten der Normalhaut, nur eine Haut (Nr.844/03) zeigt ein verbreitertes PAI-2 Signal im Stratum granulosum und eine Anfärbung im Stratum corneum. Die Ergebnisse in Netherton Epidermis entsprechen bei 5 von 6 Häuten der Psoriasis vulgaris (Stratum corneum mit Parakeratosen angefärbt, PAI-2-Signal in der oberen Epidermis in 5-7 Schichten perizellulär), eine Haut (Nr. 1324/00) zeigt im Stratum granulosum ein der Normalhaut entsprechendes Muster.

Bei Psoriasis vulgaris könnte PAI-2 ursächlich zur Apoptose-Resistenz der psoriatischen Keratinozyten beitragen, da es Zellen vor TNF- $\alpha$ -vermittelter Apoptose schützt. Die Expression von PAI-2 wird durch TNF- $\alpha$  induziert. Es kommt zu einer Interaktion zwischen der CD-Schleife von PAI-2 und einer noch unbekanntem, von TNF- $\alpha$  induzierten, intrazellulären Protease (Dickinson *et al.*, 1998). Die Experimente von Fan *et al.* (2004) weisen auf die Proteasom-Untereinheit PSMB- $\beta$ 1 als Zielprotease hin. Proteasomen sind Teil des Ubiquitin-vermittelten Proteinabbausystems und entfernen dysfunktionelle Proteine sowie schädliche oder überflüssige Enzyme aus der Zelle. Darüber hinaus kontrollieren sie zelluläre Regulationsmechanismen indem sie ein Gleichgewicht regulatorischer Enzyme bewirken und spielen somit eine Rolle in zellulärer Homöostase, Wachstum und Entwicklung. Die Proteasom-Untereinheit PSMB- $\beta$  1 wird durch PAI-2 aktiviert und degradiert I $\kappa$ B, einen

Inhibitor von NFκB. Das nun aktivierte NFκB induziert Gene, die den TNF-α-vermittelten Zelltod unterdrücken (Fan *et al.*, 2004). Die Abb. 4.1 veranschaulicht diese Kaskade.

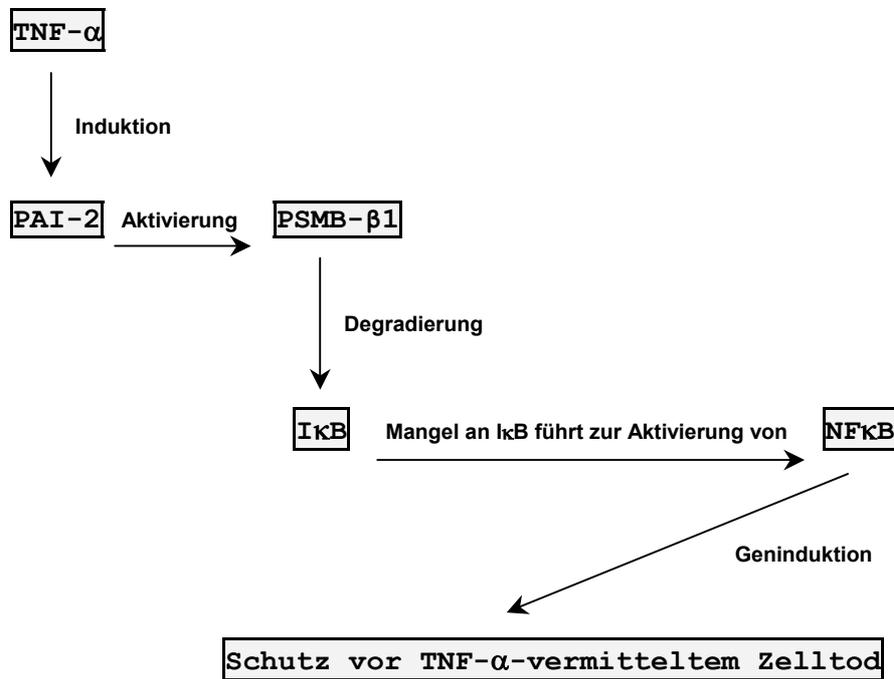


Abb. 4.1: Schutz vor Apoptose durch PAI-2

Die Erhöhung von PAI-2 in psoriatischer Epidermis kann darüber hinaus auch als Kompensationsmechanismus für die Hyperproliferation gesehen werden, denn PAI-2 wirkt als uPA-Antagonist antiproliferativ (Hibino *et al.*, 1999). Da wir in der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom eine vermehrte Expression von PAI-2 nachweisen konnten, ist es vorstellbar, dass dieser Kompensationsmechanismus auch hier eingeschaltet wird.

#### 4.2.4 Expression von Hurpin

Hurpin ist ein durch UV-Licht reprimierbares Serpin, das in menschlicher Haut und Mundschleimhaut nachgewiesen wurde. In Hautläsionen von Psoriasis vulgaris wird Hurpin verstärkt exprimiert (Abts *et al.*, 1999). Die Expression von Hurpin wurde bislang vor allem mittels RT-PCR untersucht (Abts *et al.*, 1997 und 1999; Spring *et al.*, 1999), dabei wurde jedoch keine in-situ Hybridisierung vorgenommen und eine genaue Zuordnung zu den einzelnen Hautschichten erfolgte nicht. In der vorliegenden Arbeit führten wir eine immunhistochemische Analyse von Hurpin in der Epidermis durch (Tabelle 4.1.4).

In Normalhaut zeigt Hurpin eine diffuse Anfärbung im unteren Drittel des Stratum corneum und ein perizelluläres Muster im Stratum granulosum. Im Stratum spinosum weisen 5 von 10 Häuten ein deutlich granuläres Signal an der Zellmembran auf, während die restlichen 5 Häute in dieser Schicht keine Anfärbung zeigen. Im Stratum basale sind alle Häute randständig zytoplasmatisch angefärbt.

Bei Patienten mit Psoriasis vulgaris findet sich im gesamten Stratum corneum ein lamellär-perizelluläres Hurpin-Signal. Bei 6 von 9 Häuten ist in der oberen Epidermis kein Signal zu sehen, 3 Häute weisen in dieser Schicht ein perizelluläres Muster auf. In den suprabasalen Schichten sind 8 von 9 Häuten negativ, 1 Haut zeigt granulär an der Zellmembran eine Anfärbung. Das Stratum basale ist bei 7 von 9 Häuten zytoplasmatisch angefärbt, 2 Häute sind auch hier negativ. Zusammenfassend lässt sich für die Psoriasis vulgaris sagen, dass die Hurpin-Expression im Stratum corneum im Vergleich zur Normalhaut erhöht ist. In den subkornealen Schichten findet sich eine geringere bis fehlende Anfärbung von Hurpin, das Muster im Stratum basale entspricht größtenteils dem in der Normalhaut.

In der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis zeigt sich im Stratum corneum eine lamelläre und im Stratum granulosum eine perizelluläre Anfärbung. 4 der 6 Häute zeigen im Stratum spinosum ein perizelluläres Muster (2 Häute sind in dieser Schicht negativ) und 6 von 6 Häuten weisen ein randständig zytoplasmatisches Signal im Stratum basale auf. Der Befund ähnelt insgesamt der Normalhaut.

Bei Patienten mit Netherton Syndrom zeigt Hurpin eine, gegenüber der Normalhaut erhöhte, breite positive Anfärbung im Stratum corneum. In der oberen Epidermis sind 4 der 6 Häute perizellulär angefärbt, 2 Häute sind in dieser Schicht negativ. 5 von 6 Häuten zeigen kein Signal in den suprabasalen Schichten, während 1 Haut ein perizelluläres Muster in dieser Schicht aufweist. Im Stratum basale sind alle Häute randständig zytoplasmatisch angefärbt.

Insgesamt sind die Färbeergebnisse für Hurpin bei den einzelnen Erkrankungen nicht einheitlich. Die Ursache dafür ist nicht bekannt, möglicherweise waren die biopsierten Hautareale unterschiedlicher UV-Exposition ausgesetzt.

Hurpin ist ein potenter Inhibitor der Cystein-Protease Kathepsin L (Wells *et al.*, 2003). Auf zellulärer Ebene führt UV-Bestrahlung zu oxidativem Stress, wodurch lysosomale Hydrolasen, unter anderem auch Kathepsin L, freigesetzt werden. Kathepsin L aktiviert zusammen mit anderen Proteasen Caspase 3. Caspasen spielen in apoptotischen Prozessen eine wichtige Rolle. Kathepsin L wirkt somit pro-apoptotisch und Hurpin kann als Kathepsin L-Inhibitor Keratinozyten vor Kathepsin L-vermittelter Apoptose schützen. Welss und Mitarbeiter stellen die Hypothese auf, dass lysosomale Enzyme während UV-Bestrahlung im Zytoplasma freigesetzt werden und zytoplasmatisches Hurpin durch die Interaktion mit Kathepsin L verbraucht wird. Die weitere Synthese von Hurpin wird dann durch UV-vermittelte Herabregulierung der Transkriptionsrate und Zerfall von Hurpin mRNA verhindert. Es resultiert ein Überschuss von Kathepsin L, der wiederum Caspase 3 aktiviert und somit zur Apoptose der Zelle führt (Wells *et al.*, 2003).

Die vermehrte Expression von Hurpin im Stratum corneum psoriatischer Läsionen könnte ein Kathepsin L-Defizit bewirken und dadurch unter anderem ursächlich für den anti-apoptotischen, hyperproliferativen Phänotyp der psoriatischen Keratinozyten sein (Welss *et al.*, 2003). Bereits 1997 haben Wrone-Smith und Mitarbeiter nachgewiesen, dass psoriatische Keratinozyten resistenter gegenüber Apoptose sind als normale Keratinozyten (Wrone-Smith *et al.*, 1999). Zudem ist bekannt, dass UV-Bestrahlung, die ja auch die Hurpin-Expression senkt, Psoriasis in vielen Fällen bessert. Falls ein UV-reprimierbares, anti-apoptotisches Gen wie Hurpin bei der Psoriasis mit einer Rolle spielt, kann dies eine der Erklärungen dafür sein, dass die UV-Bestrahlung bei Psoriasis wirksam ist. Für die von der Normalhaut abweichende Verteilung von Hurpin bei atopischer Dermatitis und beim Netherton Syndrom ist dies jedoch keine hinreichende Erklärung.

In diesem Zusammenhang ist interessant, dass Kathepsin L zusammen mit Kathepsin B das Transglutaminase 3 Zymogen zur aktiven Transglutaminase 3 prozessiert (Zeeuwen *et al.*, 2004). Transglutaminase 3 ist für den Aufbau des „cornified cell envelope“ von großer Bedeutung. Es ist vorstellbar, dass ein Kathepsin L-Mangel zu einer verminderten Aktivierung von Transglutaminase 3 führt und dies wiederum Störungen der epidermalen Differenzierung und Verhornung zur Folge hat. Somit können wir einen Hinweis auf die indirekte Involvierung von Hurpin in die Pathogenese vom Netherton Syndrom und von Psoriasis vulgaris sehen.

#### 4.2.5 Expression von Bomapin

Das Ov-Serpin Bomapin wurde bislang nur im Knochenmark nachgewiesen (Riewald und Schleef, 1995). Unseres Wissens erfolgte in dieser Arbeit erstmalig der immunhistochemische Nachweis von Bomapin in menschlicher Epidermis. Über die Funktionen dieses Serpins ist noch wenig bekannt. Ein Teil des zytoplasmatischen Bomapins wird über die für Serpine charakteristische CD-Schleife in den Nukleus eingeschleust, möglicherweise schützt es dort intranukleäre Proteine vor proteolytischem Abbau (Chuang und Schleef, 1999). Zudem scheint Bomapin Zellen vor TNF- $\alpha$ -vermittelter Apoptose zu schützen, indem es an durch TNF- $\alpha$  aktivierte Proteine bindet (Schleef und Chuang, 2000). Die physiologischen Zielproteasen von Bomapin sind noch nicht bekannt; *in vitro* bildet Bomapin SDS-stabile Komplexe mit Trypsin und Thrombin (Riewald und Schleef, 1995).

In unseren immunhistochemischen Färbungen zeigt Bomapin in Normalhaut ein 2-3 Schichten umfassendes Signal im Stratum granulosum, im Stratum spinosum findet sich ein schwach granulär-perizelluläres Muster und das Stratum basale ist stark zytoplasmatisch angefärbt. Die Zellkerne sind in allen Schichten angefärbt.

In Häuten von Patienten mit Psoriasis vulgaris sind im Stratum corneum die Parakeratosen angefärbt und in der oberen Epidermis findet sich eine perizelluläre Anfärbung über 6-7 Schichten. Bei Psoriasis vulgaris liegt somit ein verbreitetes Expressionsmuster von Bomapin vor. Ansonsten gleicht die Anfärbung der Normalhaut.

Bei 4 von 6 der Patienten mit atopischer Dermatitis gleicht das Bomapin-Muster in der Epidermis der Normalhaut, 2 von 6 Häuten, Nr. 421/03 und Nr. 844/03, ähneln in der Bomapin-Anfärbung der Psoriasis vulgaris und weisen ein verbreitetes perizelluläres Signal über 6-7 Schichten im Stratum granulosum auf.

Beim Netherton Syndrom zeigt Bomapin wie bei Psoriasis vulgaris eine Anfärbung der Parakeratose im Stratum corneum. In der oberen Epidermis findet sich bei 4 von 6 Häuten ein perizelluläres Signal, bei 3 davon sieht man eine Verbreiterung des Signals auf 6-7 Schichten, 2 von 6 Häuten sind negativ. In 4 von 6 Häuten zeigt sich in den suprabasalen Schichten ein granuläres Muster an der Zellmembran, 2 Häute sind auch hier negativ. Das Stratum basale ist zytoplasmatisch angefärbt. Auch die Zellkerne geben ein positives Bomapin-Signal.

Während die Bomapin-Expression bei Psoriasis vulgaris in der oberen Epidermis im Vergleich zur Normalhaut eindeutig erhöht ist, ergeben sich bei atopischer Dermatitis und beim Netherton Syndrom uneinheitliche Befunde: einige Häute (2 von 6 Häuten bei

atopischer Dermatitis und 3 von 6 Häuten beim Netherton Syndrom) zeigen ein verbreitetes Bomapin-Signal.

Da Bomapin HeLa-Zellen vor TNF- $\alpha$ -vermittelter Apoptose schützt (Schleef und Chuang, 2000), kann auch eine anti-apoptotische Funktion von Bomapin in der Epidermis vermutet werden. Die erhöhte Expression von Bomapin bei Psoriasis vulgaris könnte, ähnlich wie die erhöhte Expression von PAI-2 und Hürpin, mit ursächlich für den anti-apoptotischen und hyperproliferativen Phänotyp der psoriatischen Keratinozyten sein. Sehr wahrscheinlich spielen eine ganze Reihe anti-apoptotischer Faktoren, unter anderem auch Serpine, eine Rolle in der Pathophysiologie der psoriatischen Epidermis.

Eine weitere Aufklärung der Funktionen von Bomapin ist notwendig um genauere Rückschlüsse über die Rolle dieses Serpins in der Epidermis zu ziehen und um die unterschiedliche Expression bei verschiedenen Hautzuständen zu erklären.

### 4.3 Zusammenfassung

Serin-Protease-Inhibitoren umfassen eine Gruppe von Proteinen, die in unterschiedlicher Spezifität die proteolytische Aktivität ihrer Zielproteasen regulieren. Darüber hinaus spielen sie eine wichtige Rolle in Entzündungsprozessen, Zellwachstum und Apoptose-Regulation. Zu den Serin-Protease-Inhibitoren gehören die Serpine und eine Untergruppe der Serpine, die Ov-Serpine (der Name weist auf Sequenz-Homologien zu Hühner-Ovalbumin hin). Serpine ähneln sich strukturell und bewirken über einen Suizid-Mechanismus die Inhibition ihrer Zielproteasen. In den letzten Jahren sind epidermale Serin-Protease-Inhibitoren verstärkt in den Mittelpunkt dermatologischen Interesses gerückt.

Der neuartige Serin-Protease-Inhibitor LEKTI besteht aus 15 einzelnen potentiell inhibitorischen Domänen (Mägert *et al.*, 1999) und ist das Genprodukt von SPINK5 (Chavanas *et al.*, 2000). Mutationen im SPINK5-Gen sind ursächlich für das Netherton Syndrom - einer seltenen autosomal rezessiven kongenitalen Ichthyose, die mit Trichorrhexis invaginata und atopischer Diathese einhergeht. Ein wichtiges pathophysiologisches Modell der Erkrankung wurde von Komatsu *et al.* 2002 vorgestellt. Mutationen in SPINK5 führen zur Synthese eines verkürzten LEKTI-Proteins oder zum vollständigen Fehlen des Inhibitors. Dieser Verlust hat eine unzureichende Inaktivierung der epidermalen Kallikreine 5 (Stratum corneum tryptisches Enzym = SCTE) und 7 (Stratum corneum chymotryptisches Enzym = SCCE) zur Folge. Daraufhin kommt es zu einem vermehrten Abbau desmosomaler Strukturproteine, wie z. B. Desmoglein 1, und somit zu einer verstärkten Abschilferung der Keratinozyten. Zudem bewirkt SCCE eine Aktivierung von IL 1- $\beta$ , einem bedeutenden Entzündungsmediator in der Epidermis (Nylander Lundqvist *et al.*, 1997).

Das Netherton Syndrom gilt aufgrund der ausgeprägten atopischen Diathese als eine Modellerkrankung für die atopische Dermatitis. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung gestützt, dass SPINK5-Polymorphismen mit Asthma und atopischer Dermatitis assoziiert sind (Walley *et al.*, 2003). Dagegen lassen sich auf immunhistochemischer Ebene viele Gemeinsamkeiten mit der Psoriasis vulgaris feststellen, z. B. die erhöhte epidermale Expression von Transglutaminase 1 und Elafin oder die verminderte Expression von Transglutaminase 3. Elafin ist ein Serin-Protease-Inhibitor, der eine - wenn auch geringe - inhibitorische Wirkung gegenüber SCCE aufweist. Die Überexpression von Elafin beim Netherton Syndrom kompensiert möglicherweise den LEKTI-Mangel.

In dieser Arbeit wurde folgenden Fragen nachgegangen:

- 1) Gibt es Hinweise dafür, dass außer Elafin noch andere Serin-Protease-Inhibitoren vermehrt in der Netherton-Epidermis exprimiert werden?
- 2) Bestehen in Bezug auf die Expression ausgesuchter Serin-Protease-Inhibitoren (LEKTI, Elafin und die Ov-Serpine PAI-2, Hurlin und Bomapin) Parallelen vom Netherton Syndrom zur Psoriasis vulgaris, bzw. zur atopischen Dermatitis? Damit ist die Frage verbunden, ob das Netherton Syndrom als Modell für die Pathophysiologie einer der beiden Erkrankungen in Betracht gezogen werden kann.

Mittels Immunfluoreszenz-Mikroskopie wurde die Expression von LEKTI, Elafin, PAI-2, Hurlin und Bomapin an Kryostatschnitten der Haut von Patienten mit Netherton Syndrom (n=6), Psoriasis vulgaris (n=10) und atopischer Dermatitis (n=6) analysiert. 10 Normalhäute dienten als Kontrollen.

Ein Signal von LEKTI fehlt fast vollständig beim Netherton Syndrom. Bei Psoriasis vulgaris zeigt sich abschnittsweise eine fehlende bis geringe Anfärbung („patchy“). Bei atopischer Dermatitis findet sich wie bei Normalhaut ein zytoplasmatisches LEKTI-Signal im Stratum granulosum, wobei 2 von 6 Häuten nur ein sehr schwaches Signal aufweisen.

Die Elafin-Expression ist sowohl beim Netherton Syndrom als auch bei Psoriasis vulgaris erhöht, bei atopischer Dermatitis zeigt sich entsprechend der Normalhaut nur ein fehlendes bis sehr geringes Elafin-Signal.

Die Expression von PAI-2 und zum Teil auch von Bomapin ist beim Netherton Syndrom und bei Psoriasis vulgaris im Vergleich zur Normalhaut erhöht, während atopische Dermatitis überwiegend der Normalhaut entspricht.

Beim Netherton Syndrom, Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis findet sich im Vergleich zur Normalhaut ein verstärktes Hurlin-Signal im Stratum corneum. In Bezug auf die weiteren epidermalen Schichten wurde bei Hurlin kein einheitliches Ergebnis festgestellt.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass beim Netherton Syndrom nicht nur die Elafin-Expression erhöht ist, sondern dass auch die anti-apoptisch wirkenden Ov-Serpine PAI-2 und Bomapin hochreguliert scheinen. Das trifft ebenfalls für die Psoriasis vulgaris zu. Interessanterweise ist hier auch die LEKTI-Expression deutlich vermindert. Bei atopischer Dermatitis entspricht die Expression der untersuchten Serpine überwiegend der Normalhaut.

Die Ergebnisse legen nahe, dass beim Netherton Syndrom und bei Psoriasis vulgaris gemeinsame pathophysiologische Grundlagen bestehen. Deshalb wäre eine Untersuchung auf SPINK5-Polymorphismen (Assoziationsstudie) bei Psoriasis vulgaris sehr interessant.

## 5 Literaturverzeichnis

- 1. Abts HF, Breuhahn K, Michel G, Köhrer K, Esser P, Ruzicka T**  
Analysis of UVB-modulated gene expression in human keratinocytes by mRNA differential display polymerase chain reaction  
*Photochem Photobiol* 66(3): 363-7, 1997
- 2. Abts HF, Wells T, Alireza M, Köhrer K, Michel G, Ruzicka T**  
Cloning and characterization of hurpin (Protease Inhibitor 13): A new specific, UV-repressible serine proteinase inhibitor of the ovalbumin serpin family  
*J Mol Biol* 293: 29-39, 1999
- 3. Abts HF, Wells T, Scheuring S, Scott FL, Irving JA, Michel G, Bird T**  
Sequence, organization, chromosomal localization, and alternate splicing of the human serine proteinase inhibitor gene hurpin which is upregulated in psoriasis  
*DNA Cell Biol* 20(3): 123-131, 2001
- 4. Altman EM, Kamino H**  
Diagnosis: Psoriasis or Not? What are the Clues?  
*Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 18, No. 1: 25-35, 1999
- 5. Bachman F**  
The enigma PAI-2. Gene expression, evolutionary and functional aspects  
*Thromb Haemost* 74(1): 172-179, 1995
- 6. Barker JNWN**  
The pathophysiology of psoriasis  
*Lancet* 338: 217-234, 1991
- 7. Bechtel MJ, Wysocki NS, Heidtmann A, Stark H-J, Fusing N, Kramer MD, Schaefer BM**  
Plasminogen activator inhibitor type 2 is expressed in keratinocytes during re-epithelization of epidermal defects  
*Br J Dermatol* 138: 22-28, 1998

- 8. Bianchi L, Farrace MG, Nini G, Piacentini M**  
Abnormal Bcl-2 and “tissue” transglutaminase expression in psoriatic skin  
*J Invest Dermatol 103: 829-833, 1994*
- 9. Bitoun E, Micheloni A, Lamant L, Bonnart C, Tartaglia-Polcini A, Cobbold C, Al Saati T, Marriotti F, Mazreeuw-Hautier J, Boralevi F, Hohl D, Harper J, Bodemer C, D’Alessio M, Hovnanian A**  
LEKTI proteolytic processing in human primary keratinocytes, tissue distribution and defective expression in Netherton syndrome.  
*Hum Mol Genet 12 (19): 2417-30, 2003*
- 10. Bode W, Huber R**  
Natural protein proteinase inhibitors and their interactions with proteinases  
*Eur J Biochem 204: 433-451, 1992*
- 11. Bowcock AM, Cookson WOCM**  
The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis  
*Hum Mol Genet 13 (1): 43-55, 2004*
- 12. Boyd A, Neldner KH**  
The isomorphic response of Koebner (Review)  
*Internat J Dermatol 29 (6): 401-410, 1990*
- 13. Caroll JM, Romero MR, Watt FM**  
Suprabasal integrin expression in the epidermis of transgenic mice results in developmental defects and a phenotype resembling psoriasis  
*Cell 83: 957-968, 1995*
- 14. Caubet C, Jonca N, Brattsand M, Guerrin M, Bernard D, Schmidt R, Egelrud T, Simon M, Serre G**  
Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7  
*J Invest Dermatol 122: 1235-1244, 2004*

- 15. Chavanas S, Garner C, Bodemer C, Ali M, Teillac DH, Wilkinson J, Bonafe JL, Paradisi M, Kelsell DP, Ansai S**  
Localization of the Netherton syndrome gene to chromosome 5q32, by linkage analysis and homozygosity mapping.  
*Am J Hum Genet* 66:914-921, 2000
- 16. Chavanas S, Bodemer C, Rochat A, Hamel-Teillac D, Ali M, Irvine AD, Bonafe JL, Wilkinson J, Taib A, Barradon Y**  
Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome.  
*Nat Genet* 25:141-142, 2000
- 17. Chipuk JE, Stewart LV, Ranieri A, Song K, Danielpour D**  
Identification and characterization of a novel rat ov-serpin family member, trespin  
*J Biol Chem* 277: 26412-26421, 2002
- 18. Chuang TL, Schleef RR**  
Identification of a nuclear targeting domain in the insertion between helices C and D in protease inhibitor-10  
*J Biol Chem* 274: 11194-11198, 1999
- 19. Comél M**  
Ichthyosis linearis circumflexa  
*Dermatologica* 98: 133-136, 1949
- 20. Cookson WOC, Moffatt MF**  
Genetics of asthma and allergic disease  
*Hum Mol Genet* 9(16): 2359-2364, 2000
- 21. Dickinson JL, Bates EJ, Ferrante A, Antalis TM**  
Plasminogen activator inhibitor type 2 inhibits tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis. Evidence for an alternate biological function.  
*J Biol Chem* 270: 27894-27904, 1995

- 22. Derian CK, Eckhardt AJ, Andrade-Gordon P**  
Differential regulation of human keratinocyte growth and cell differentiation by a novel family of protease-activated receptors  
*Cell Growth Differ* 8(7): 743-749, 1997
- 23. Dery O, Corvera CU, Steinhoff M, Bunnett NW**  
Proteinase-activated receptors: novel mechanisms of signalling by serine proteases  
*Am J Physiol* 274: C 1429-1452, 1998
- 24. Ekholm IE, Brattsand M, Egelrud T**  
Stratum corneum tryptic enzyme in normal epidermis: a missing link in the desquamation process?  
*J Invest Dermatol* 114: 56-63, 2000
- 25. Ekholm IE, Egelrud T**  
Expression of stratum corneum chymotryptic enzyme in relation to other markers of differentiation in a skin explant model  
*Exp Dermatol* 9:65-70, 2000
- 26. Fan J, Zhang YQ, Li P, Hou M, Tan L, Wang X, Zhu YS**  
Interaction of plasminogen activator inhibitor 2 and proteasome subunit beta type 1  
*Acta Biochim et Biophysica* 36(1): 42-46, 2004
- 27. Franzke CW, Baici A, Bartels J, Christophers E, Wiedow O**  
Antileukoproteinase inhibits stratum corneum chymotryptic enzyme  
*J Bio Chem* 271(36), 21886-21890, 1996
- 28. Fritsch P**  
Dermatologie und Venerologie - Lehrbuch und Atlas  
*Springer Verlag*, 2003
- 29. Gaston L, Lassonde M, Bernier-Buzzanga J, Hodgins S, Crombez JC**  
Psoriasis and stress: A prospective study  
*J Am Acad Dermatol* 17(1): 82-86, 1987

- 30. Girolonimo G, Pastore S**  
The role of keratinocytes in the pathogenesis of atopic dermatitis  
*J Am Acad Dermatol 45: S25-S28, 2001*
- 31. Gudjonsson JE, Johnston A, Sigmundsdottir H, Vladimarsson**  
Immunopathogenic mechanisms in psoriasis  
*Clin Exp Immunol 135: 1-8, 2004*
- 32. Hanifin JM**  
Diagnostic criteria for atopic dermatitis: consider the context  
*Arch Dermatol 135: 1551, 1999*
- 33. Hausser I, Anton-Lamprecht I**  
Severe congenital generalized exfoliative erythroderma in newborns and infants: a possible sign of Netherton syndrome  
*Pediatr Dermatol 13: 183-199, 1996*
- 34. Henseler T, Christophers E**  
Psoriasis of early and late onset: Characterization of two types of psoriasis vulgaris  
*J Am Acad Dermatol 13: 450-456, 1985*
- 35. Hibino T, Izaki S, Izaki M**  
Purification of epidermal plasminogen activator inhibitor  
*FEBS Letters 208: 273-277, 1986*
- 36. Hibino T, Matsuda Y, Takahashi T, Goetinck PF**  
Suppression of keratinocyte proliferation by plasminogen activator inhibitor-2  
*J Invest Dermatol 112:85-90, 1999*

- 37. Jensen PH, Schüler E, Woodrow G, Richardson M, Goss N, Hoejrup P, Petersen TE, Rasmussen LK**  
A unique interhelical insertion in plasminogen activator inhibitor-2 contains three glutamines Gln 83, Gln 84, Gln 86 essential for transglutaminase-mediated cross-linking  
*J Biol Chem* 269: 15394-15398, 1994
- 38. Jensen PH, Jensen TG, Laug WE, Hager H, Gliemann J, Pepinsky B**  
The exon 3 encoded sequence of the intracellular serine proteinase inhibitor plasminogen activator inhibitor 2 is a protein binding domain  
*J Biol Chem* 271: 26892-26899, 1996
- 39. Jensen PJ, Yang T, Yu DW, Baker MS, Risse B, Sun TT, Lavker RM**  
Serpins in the human hair follicle  
*J Invest Dermatol* 114: 917-922, 2000
- 40. Jensen PJ, Wu Q, Janowitz P, Ando Y, Schechter NM**  
Plasminogen activator inhibitor type 2: an intracellular keratinocyte differentiation product that is incorporated into the cornified envelope  
*Exp Cell Res* 271(1): 65-71, 1995
- 41. Judge MR, Morgan G, Harper JI**  
A clinical and immunological study of Netherton`s syndrome  
*Br J Dermatol* 131: 615-621, 1994
- 42. Kabesch M, Carr D, Weiland S, Von Mutius E**  
Association between polymorphisms in serine protease inhibitor, kazal type 5 and asthma phenotypes in a large German population sample  
*Clin Exp Allergy* 34(3): 340-345, 2004
- 43. Kadunce DP, Krueger GG**  
Pathogenesis of psoriasis  
*Dermatol Clin* 13(4): 723-37, 1995

- 44. Kalinin A, Marekov LN, Steinert PM**  
Assembly of the epidermal cornified cell envelope  
*J Cell Sci 114: 3069-3070, 2001*
- 45. Kalinin A, Kajava AV, Steinert PM**  
Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope  
*BioEssays 24: 789-800, 2002*
- 46. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E**  
Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial  
*Lancet 357: 1076-1079, 2001*
- 47. Kerl H, Garbe C, Cerroni L, Wolff HH**  
Histopathologie der Haut  
*Springer Verlag, 2003*
- 48. Kirchheimer JC, Christ G, Binder BR**  
Growth stimulation of human epidermal cells by urokinase is restricted to the intact active enzyme  
*Eur J Biochem 181: 103-107, 1989*
- 49. Komatsu N, Minoru T, Otsuki N, Ohka R, Amano O, Takehara K, Saijoh K**  
Elevated stratum corneum hydrolytic activity in Netherton syndrome suggests an inhibitory regulation of desquamation by SPINK5-derived peptides.  
*J Invest Dermatol 118(3):436-43, 2002*
- 50. Kruithof EKO, Baker MS, Bunn CL**  
Biological and clinical aspects of plasminogen activator inhibitor type 2  
*Blood 86: 4007-4024, 1995*
- 51. Krowarsch D, Cierpicki T, Jelen F, Otelewski J**  
Canonical protein inhibitors of serine proteases  
*Cell Mol Life Sci 60(11): 2427-2444, 2003*

- 52. Kumar S, Baglioni C**  
Protection from tumor necrosis factor-mediated cytotoxicity by overexpression of plasminogen activator inhibitor-2  
*J Biol Chem* 266: 20960-260964, 1991
- 53. Laporte M, Galand P, de Graef C, Heenen M**  
Apoptosis in established and healing psoriasis  
*Dermatology* 200: 314-316, 2000
- 54. Lavker RM, Risse B, Brown H, Ginsburg D, Pearson J, Baker MS, Jensen PJ**  
Localization of plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) in hair and nail: Implications for terminal differentiation  
*J Invest Dermatol* 110: 917-922, 1998
- 55. Lee YA, Rüschenhoff F, Windemuth C, Schmitt-Egenolf M, Stadelmann A, Nürnberg G, Ständer M, Wienker TF, Reis A, Traupe H**  
Genomewide scan in German families reveals evidence for a novel psoriasis-susceptibility locus on chromosome 19p13  
*Am J Hum Genet* 67: 1020-124, 2000
- 56. Leung DYM, Bieber T**  
Atopic dermatitis  
*Lancet* 361: 151-160, 2003
- 57. Lian X, Yang T**  
Plasminogen activator inhibitor 2: expression and role in differentiation of epidermal keratinocytes  
*Biol Cell* 96(2): 109-116, 2004
- 58. Lyons-Giordano B, Loskutoff D, Chen CS, Lazarus G, Keeton M, Jensen PJ**  
Expression of plasminogen activator inhibitor type 2 in normal and psoriatic epidermis  
*Histochemistry* 101(2): 105-112, 1994

- 59. Madison KC**  
Barrier function of the skin: “La raison d’être of the epidermis”  
*J Invest Dermatol 121: 231-241*
- 60. Mägert HJ, Ständker L, Kreutzmann P, Zucht HD, Reinecke M., Sommerhoff CP, Fritz H, Forssmann WG**  
LEKTI, a novel 15-domain type of human serine proteinase inhibitor.  
*J Biol Chem 247: 21499-21502, 1999*
- 61. Mägert HJ, Kreutzmann P, Ständker L, Walden M, Drögemüller K, Forssmann WG**  
LEKTI, a multidomain serine proteinase inhibitor with pathophysiological relevance  
*Int J Biochem Cell Biol 34: 573-576, 2002*
- 62. Mägert HJ, Kreutzmann P, Drögemüller K, Ständker L, Adermann K, Walden M, John H, Korting HC, Forssmann WG**  
The 15-domain serine proteinase inhibitor LEKTI: Biochemical properties, genomic organization, and pathophysiological role  
*Eur J Med Res 7: 49-56, 2002*
- 63. Meyer-Hoffert U, Wichmann N, Schwichtenberg L, White PC, Wiedow O**  
Supernatants of *Pseudomonas aeruginosa* induce the *Pseudomonas*-specific antibiotic elafin in human keratinocytes  
*Exp Dermatol 12: 418-425, 2003*
- 64. Michaelsson G, Gerden B, Hagforsen E, Nilsson B, Pihl-Lundin I, Kraaz W, Hjelmquist G, Lööf L**  
Psoriasis patients with antibodies to gliadin can be improved by a gluten-free diet  
*Br J Dermatol 142: 44-51, 2000*

- 65. Mitsudo K, Jayakumar A, Henderson Y, Frederick MJ, Kang Y, Wang M, El-Nagger AK, Clayman GL**  
Inhibition of serine proteinases Plasmin, Trypsin, Subtilisin A, Cathepsin G, and Elastase by LEKTI: A kinetic analysis.  
*Biochemistry* 42: 3874-3881, 2003
- 66. Moffatt M, Cookson W**  
The genetics of asthma. Maternal effects in atopic disease  
*Clin Exp Allergy* 28: 56-61, 1998
- 67. Netherton EW**  
A unique case of trichorrhexis nodosa – “bamboo hairs“  
*Arch Dermatol* 78: 483-487, 1958
- 68. Nickoloff BJ**  
The immunologic and genetic basis of psoriasis (review)  
*Arch Dermatol* 135: 1104–1110, 1999
- 69. Novak N, Bieber T**  
The skin as a target for allergic disease  
*Allergy* 55: 103-107, 2000
- 70. Novak N, Bieber T**  
Pathophysiologie der atopischen Dermatitis  
*Deutsches Ärzteblatt* 101 (3): 92-100, 2004
- 71. Nylander Lundqvist E, Egelrud T**  
Formation of active IL-1 from pro-IL-1 catalysed by stratum corneum chymotryptic enzyme *in vitro*  
*Acta Cermatol Venerol (Stockh)* 77:203-206, 1997
- 72. Ortonne, JP**  
Recent development in the understanding of the pathogenesis of psoriasis  
*Brit J Dermatol* 140 (54): 1-7, 1999

- 73. Paus R, Rosenbach T, Haas N, Czarnetzki BM**  
Patterns of cell death: the significance of apoptosis for dermatology  
*Exp Dermatol* 2: 3-11, 1993
- 74. Pfundt R, van Ruissen F, van Vlijmen-Willems, Alkemade HAC, Zeeuwen P, Jap PH, Dijkman H, Fransen J, Croes H, van Erp PEJ, Schalkwijk J**  
Constitutive and inducible expression of SKALP/elafin provides anti-elastase defense in human epithelia  
*J Clin Invest* 98: 1389-1399, 1996
- 75. Pfundt R, Vlijmen-Willems I, Bergers M, Wingens M, Cloin W, Schalkwijk J**  
In situ demonstration of phosphorylated c-jun and p38 MAP kinase in epidermal keratinocytes following ultraviolet B irradiation of human skin  
*J Pathol* 193: 248-255, 2001
- 76. Pol A, Pfundt R, Zeeuwen P, Molhuizen H, Schalkwijk J**  
Transcriptional regulation of the elafin gene in human keratinocytes  
*J Invest Dermatol* 120: 301-307, 2003
- 77. Potempa J, Korzus E, Travis J**  
The serpin superfamily of proteinase inhibitors: structure, function, and regulation  
*J Biol Chem* 269: 15957-15960, 1994
- 78. Raganath M, Tontsidou L, Oji V, Aufenvenne K, Schürmeyer-Horst F, Jayakumar A, Ständer H, Smolle J, Clayman GL, Traupe H**  
SPINK5 and Netherton Syndrome: novel mutations, demonstration of missing LEKTI by a monoclonal antibody and differential expression of transglutaminases  
*J Invest Dermatol* 123: 474-483, 2004
- 79. Remold-O'Donnell E**  
The ovalbumin family of serpin proteins  
*FEBS Lett* 315: 105-108, 1993

**80. Riewald M, Schleef R.R**

Molecular cloning of bomapin (protease inhibitor 10), a novel human serpin that is expressed specifically in the bone marrow

*J Biol Chem* 270: 26754-26757, 1995

**81. Risse BC, Chung NM, Baker MS, Jensen PJ**

Evidence for intracellular cleavage of plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) in normal epidermal keratinocytes

*J Cell Physiol* 182: 281-289, 2000

**82. Ritchie H, Lawrie LC, Crombie PW, Mosesson MW, Booth NA**

Cross-linking of plasminogen activator inhibitor 2 and  $\alpha$ 2-antiplasmin to fibrin(ogen)

*J Biol Chem* 275: 24915-24920, 2000

**83. Sallenave JM**

The role of secretory leukocyte proteinase inhibitor and elafin (elastase specific inhibitor/skin derived antileukoproteinase) as alarm proteinases in inflammatory lung disease

*Resp Res* 1: 87-92, 2000

**84. Schalkwijk J, Wiedow O, Hirose S**

The trappin gene family: proteins defined by an N-terminal transglutaminase substrate domain and a C-terminal four-disulphide core

*Biochem J* 340: 569-577, 1999

**85. Schleef RR, Chuang TL**

Protease inhibitor 10 inhibits tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced cell death

*J Biol Chem* 275: 26385-26389, 2000

- 86. Silverman GA, Bird PI, Carrell RW, Church FC, Coughlin PB, Gettins PGW, Irving JA, Lomas DA, Cliff JL, Moyer RW, Pemberton PA, Remold-O'Donnel E, Salvesen GS, Travis J, Whisstock JC**  
The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins  
*J Biol Chem* 276: 33293-33296, 2001
- 87. Sondell B, Thornell LE, Egelrud T**  
Evidence that stratum corneum chymotryptic enzyme is transported to the stratum corneum extracellular space via lamellar bodies  
*J Invest Dermatol* 104: 819-823, 1995
- 88. Sprecher E, Chavanas S, DiGiovanna JJ, Amin S, Nielsen K, Prendville JS, Silverman R, Esterly NB, Sparker MK, Guelig E, de Luna ML, Williams GL, Buehler B, Siegfried EC, van Maldergem L, Pfender E, Bale SJ, Uitto J, Hovnanian A, Richard G**  
The spectrum of pathogenic mutations in SPINK5 in 19 families with Netherton syndrome: implications for mutation detection and first case of prenatal diagnosis.  
*J Invest Dermatol* 117:179-187, 2001
- 89. Spring P, Nakashima T, Frederick M, Henderson Y, Clayman G**  
Identification and cDNA cloning of headpin, a novel differentially expressed serpin that maps to chromosome 18q  
*Biochem Biophys Res Comm* 264: 299-304
- 90. Stevanovic DV**  
Multiple defects of the hair shaft in Netherton's disease. Association with ichthyosis linearis circumflexa  
*Br J Dermatol* 81: 851-857, 1969
- 91. Suzuki Y, Koyama J, Moro O, Kikuchi K, Tanida M, Tagami H**  
The role of two endogenous proteases of the stratum corneum in degradation of desmoglein-1 and their reduced activity in the skin of ichthyotic patients  
*Br J Dermatol* 134: 460-464, 1996

- 92. Swanbeck G, Inerot A, Martinsson T, Wahlström J**  
A population genetic study of psoriasis  
*Brit J Dermatol 131: 32–39, 1994*
- 93. Sybert VP**  
Netherton syndrome. In: Sybert VP, editor: Genetic skin disorders  
*New York: Oxford University Press: 31-34, 1997*
- 94. Tanaka N, Fujioka A, Tajima S, Ishibashi A, Hirose S**  
Elafin is induced in epidermis in skin disorders with dermal neutrophilic infiltration:  
interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  stimulate its secretion *in vitro*  
*Br J Dermatol 143: 728-732, 2000*
- 95. Traupe H**  
The Comèl Netherton syndrome. In: Traupe H, editor: The Ichthyoses: A Guide to  
clinical diagnosis, genetic counselling, and therapy.  
*Springer; Berlin:168-178, 1989*
- 96. Traupe H, van Gurp PJM, Happel R, Boezeman J, van de Kerkhof PCM,**  
Psoriasis vulgaris, fetal growth, and genomic imprinting  
*Am J Hum Genet 42: 649–654, 1992*
- 97. Valdimarsson H, Baker BS, Jónsdóttir I, Fry L**  
Psoriasis: a disease of abnormal keratinocyte proliferation induced by T lymphocytes  
*Immunology Today 7(9), 256–258, 1986*
- 98. Valdimarsson H, Baker BS, Jónsdóttir I, Powels A, Fry L**  
Psoriasis: a T-cell-mediated autoimmune disease induced by streptococcal  
superantigens?  
*Immunology Today 16(3), 145–149, 1995*

- 99. Valdimarsson H., Sigmundsdottir H., Jónsdóttir I**  
Is psoriasis induced by streptococcal superantigens and maintained by M-protein-specific T cells that cross-react with keratin?  
*Clin Exp Immunol 107: Suppl 1: 21–4, 1997*
- 100. Walley AJ, Chavanas S, Moffatt MF, Esnouf RM, Ubhi B, Lawrence R, Wong K, Abecasis GR, Jones EY, Harper JI, Hovnanian A, Cookson WOCM**  
Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease  
*Nat Genet 29 (2): 175-178, 2001*
- 101. Wells T, Sun J, Irving JA, Blum R, Smith I, Whisstock JC, Pike RN, von Mikez A, Ruzicka T, Bird PI, Abts HF**  
Hurpin is a selective inhibitor of lysosomal Cathepsin L and protects keratinocytes from ultraviolet-induced apoptosis  
*Biochemistry 42: 7381-7389, 2003*
- 102. Wiedow O**  
Isolierung und Charakterisierung von Serinproteaseinhibitoren in der menschlichen Epidermis  
*Verlag Dr. Köster, Berlin, 1995*
- 103. Wright HT, Scarsdale JN**  
Structural basis for serpin inhibitory activity  
*Proteins 22(3): 210-225, 1995*
- 104. Wrono-Smith T, Mitra RS, Thompson CB, Jasty R, Castle VP, Nickoloff BJ**  
Keratinocytes derived from psoriatic plaque are resistant to apoptosis compared with normal skin  
*Am J Pathol 151(5): 1321–9, 1997*
- 105. Yildiz L, Baris S, Senturk N, Kandemir B**  
Overexpression of bcl-2 in lymphocytes of psoriatic skin  
*J Eur Acad Dermatol Venerol 17: 538-540, 2002*

- 106. Zeeuwen PLJM, van Vlijmen-Willems IMJJ, Olthuis D, Johansen HT, Hitomi K, Hara-Nishimuri I, Powers JC, James KE, op den Camp HJ, Lemmens R, Schalkwijk J**

Evidence that unrestricted legumain activity is involved in disturbed epidermal cornification in cystatin M/E deficient mice

*Hum Mol Genet* 13 (10): 1069-1079, 2004

- 107. Zhou Q, Snipas S, Orth K, Muzio M, Dixit VM, Salvesen GS**

Target protease specificity of the viral serpin CrmA. Analysis of five caspases

*J Biol Chem* 272: 7797-7800, 1997

## 6 Abbildungsverzeichnis

<i>Abb.:</i>	<i>Seite</i>
1.1 Struktur der Epidermis	- 1 -
1.2 Aufbau des „cornified cell envelope“	- 7 -
1.3 Klinische Merkmale des Netherton Syndroms	- 11 -
1.4 SPINK5 besteht aus 33 Exons und ist 61 kb lang	- 12 -
1.5 Aufbau des LEKTI-Proteins aus 15 Domänen	- 14 -
1.6 LEKTI-Mangel führt zu unzureichender Inaktivierung von Stratum corneum tryptischem Enzym und Stratum corneum chymotryptischem Enzym	- 16 -
1.7 Immunpathologie der atopischen Dermatitis	- 27 -
1.8 Modell der Desquamation	- 32 -
1.9 Domain-Struktur des Trappin-Vorläufermoleküls	- 33 -
1.10 Die Wirkung von urokinase Plasminogen Aktivator	- 40 -
3.1 a)-f): Darstellung von LEKTI (Immunfluoreszenz) Teil I	- 67 -
3.2 a)-f): Darstellung von LEKTI (Immunfluoreszenz) Teil II	- 68 -
3.3 a)-f): Darstellung von Elafin (Immunfluoreszenz)	- 72 -
3.4 a)-f): Darstellung von PAI-2 (Immunfluoreszenz)	- 78 -
3.5 a)-f): Darstellung von Hurpin (Immunfluoreszenz)	- 84 -
3.6 a)-g): Darstellung von Bomapin (Immunfluoreszenz)	- 90 -
4.1 Schutz vor Apoptose durch PAI-2	-100-

## 7 Tabellenverzeichnis

<i>Tab.:</i>		<i>Seite</i>
1.1	Einteilung der Ichthyosen nach Traupe mit Vererbungsmodus	- 9 -
1.2	Übersicht über bislang entdeckte Ov-Serpine	- 38 -
3.1	Immunhistochemische Färbung von LEKTI bei Patienten mit Psoriasis vulgaris	- 64 -
3.2	Immunhistochemische Färbung von LEKTI bei Patienten mit atopischer Dermatitis	- 65 -
3.3	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit LEKTI	- 66 -
3.4	Immunhistochemische Färbung von Elafin bei Patienten mit atopischer Dermatitis	- 70 -
3.5	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Elafin	- 71 -
3.6	Immunhistochemische Färbung von PAI-2 in Normalhaut	- 73 -
3.7	Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit Psoriasis vulgaris	- 74 -
3.8	Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit atopischer Dermatitis	- 75 -
3.9	Immunhistochemische Färbung von PAI-2 bei Patienten mit Netherton Syndrom	- 76 -
3.10	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit PAI-2	- 77 -
3.11	Immunhistochemische Färbung von Hurpin in Normalhaut	- 79 -
3.12	Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris	- 80 -
3.13	Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit atopischer Dermatitis	- 81 -
3.14	Immunhistochemische Färbung von Hurpin bei Patienten mit Netherton Syndrom	- 82 -
3.15	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Hurpin	- 83 -
3.16	Immunhistochemische Färbung von Bomapin in Normalhaut	- 85 -
3.17	Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris	- 86 -
3.18	Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit atopischer Dermatitis	- 87 -

3.19	Immunhistochemische Färbung von Bomapin bei Patienten mit Netherton Syndrom	- 88 -
3.20	Übersicht der immunhistochemischen Färbungen mit Bomapin	- 89 -
4.1.1	Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von LEKTI	- 91 -
4.1.2	Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Elafin	- 92 -
4.1.3	Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von PAI-2	- 92 -
4.1.4	Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Hurpin	- 93 -
4.1.5	Übersicht über die immunhistochemischen Färbungen von Bomapin	- 93 -

# Curriculum vitae

## **Persönliche Daten**

Name: Melody Enyinna Oji  
Anschrift: Kerkerinckstr. 20  
48151 Münster  
Telefon: 0049/(+0)251/2372774  
E-Mail: melodyoji@hotmail.com  
Geburtsdatum: 28.02.1977  
Geburtsort: Münster  
Familienstand: verheiratet, ein Kind  
Staatsangehörigkeit: deutsch

## **Schulbildung**

1983 – 1984 Lorettogrundschule (Freiburg)  
1984 – 1987 Albert-Schweizer-Grundschule (Freiburg)  
1987 – 1989 Gymnasium Martinum (Emsdetten)  
1989 – 1992 University Secondary School (Enugu, Nigeria)  
1992 – 1995 Privatunterricht  
1993 Cambridge GCE O`Levels  
1995 Cambridge GCE A`Levels

## **Hochschulausbildung**

SS 1996 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
WS 1997 Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes  
13.03.1998 Ärztliche Vorprüfung  
23.03.1999 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
1999/2000 Erasmus-Studienaustausch: Universiteit Utrecht, Utrecht,  
Niederlande  
10.09.2001 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2002 – 2003 Praktisches Jahr in Haarlem, Paris und Münster  
19.05.2003 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde von Juli 2003 bis September 2004 in der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt meinem Mann, Dr. Vinzenz Oji, für seine Unterstützung und Hilfsbereitschaft. Er hat meine Arbeit hervorragend betreut und stand mir zu jeder Zeit mit guten Ratschlägen zur Seite.

Ich danke Tatjana Walker für die Hilfestellung am Kryostatgerät und für ihre Ansprechbarkeit bei vielen Fragen im immunhistochemischen Labor.

Ich danke auch meinem Sohn Alanna Nikolaus. Er gab mir viel Kraft und Freude und half mir dadurch, meine Doktorarbeit zu schreiben.

Sehr dankbar bin ich Dobrinka Andreeva. Nur durch ihre Unterstützung konnte ich die Zeit finden, diese Arbeit fertig zu stellen.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden und Freundinnen, die mich während des Schreibens so gut unterstützt haben.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Heiko Traupe !