



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Teorier om de immunologiska mekanismerna bakom bullous pemphigoid

Eric Bergstrand

*Uppsala
2016*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2016:10

Teorier om de immunologiska mekanismerna bakom bullous pemphigoid

Theories about the immunopathological features of bullous pemphigoid

Eric Bergstrand

*Handledare: Magnus Åbrink och Caroline Fossum, institutionen för biomedicin
och veterinär folkhälsovetenskap*

*Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp
Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX0700
Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2016
Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen
Delnummer i serie: 2016:10
Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Bullous pemphigoid, autoantikroppar, hemidesmosom, BPAG1, BPAG2
Key words: Bullous pemphigoid, autoantibodies, hemidesmosome, BPAG1, BPAG2

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturöversikt	4
<i>Antikroppar mot keratinocyternas hemidesmosomer</i>	4
<i>Hemidesmosomens struktur och funktion</i>	4
<i>BPAG1 och BPAG2</i>	4
<i>Bullous pemphigoid och experimentella försök</i>	4
<i>Komplement, mastceller och neutrofiler</i>	5
<i>Komplementsystemet</i>	5
<i>Mastceller</i>	6
<i>Neutrofiler</i>	6
<i>Utveckling av bullous pemphigoid utan komplementsystemet</i>	7
<i>IgE som patogen antikropp i bullous pemphigoid</i>	7
<i>IgE-antikroppars och eosinofilers funktion i immunförsvaret</i>	7
<i>IgE och eosinofiler i bullous pemphigoid</i>	7
<i>Bullous pemphigoid hos hund</i>	9
Diskussion	9
Referenslista	11

SAMMANFATTNING

Bullous pemphigoid är en autoimmun hudsjukdom som orsakar separation av epidermis och dermis vilket leder till en subepidermal blåsbildning och drabbade individer får även rodnader och nässelutslag. Sjukdomen är den vanligaste autoimmuna subepidermala blåsdermatosen hos människa, men den finns även beskriven hos hund, katt, gris och häst. Den immunologiska mekanismen bakom bullous pemphigoid är inte helt utredd, men det har gjorts en hel del forskning för att kartlägga den. Även om sjukdomen är betydligt mycket vanligare hos människa än hos djur är det av stort intresse att uppmärksamma homologa varianter av sjukdomen hos djur för att kunna samla in mer information om mekanismerna bakom sjukdomen. En helt kartlagd sjukdomsmekanism skulle öka förutsättningarna för att lyckas hitta ett optimalt läkemedel.

Det finns i dagsläget flera olika teorier om vilka komponenter i immunförsvaret som är viktiga i utvecklingen av blåsbildningen. De olika forskargrupperna har fått olika resultat och på så sätt genererat motsägande teorier. Majoriteten av de studier som utförts bygger på experimentella försök på möss. Syftet med denna litteraturstudie är att sammanställa den befintliga information som finns om den immunologiska sjukdomsmekanismen bakom bullous pemphigoid.

Sjukdomen uppkommer genom att autoantikroppar bildas mot keratinocyternas hemidesmosomer. Hemidesmosomens fysiologiska funktion i huden är att länka samman keratinocyterna i epidermis med strukturer i basalmembranet. Vid uppkomsten av autoantikropparna separeras därför epidermis från dermis och blåsor i huden bildas.

En klassisk teori om hur antikropparna kan orsaka blåsbildning bygger på att komplementfaktorer, mastceller och neutrofiler ansamlas och aktiveras i huden. Ett samspel mellan dessa komponenter leder då till nedbrytning av hemidesmosomen. Det finns dock nyare studier som tyder på att bullous pemphigoid kan utvecklas utan att komplementsystemet aktiveras, där antikropparnas påverkan på keratinocyterna direkt kan leda till nedbrytning av hemidesmosomen. Det diskuteras även om vilken typ av antikropp som är viktigast för sjukdomsutvecklingen där de äldre studierna fokuserar på IgG-antikroppar medan nyare studier lyfter fram IgE-antikropparnas roll. Forskningen behöver i framtiden fokusera på att studera de olika mekanismernas samverkan istället för att försöka bevisa att en av dem är rätt.

Bullous pemphigoid är relativt ovanlig hos hund. De diagnostiska verktygen som krävs för att fullständigt kunna konstatera fall av sjukdomen är dock begränsade på djursidan och därför skulle sjukdomen kunna vara kraftigt underdiagnostiserad. För att kunna studera denna spontant uppkomna djurmodell av sjukdomen, som på humansidan faktiskt är ett stort problem, bör veterinärer vara uppmärksamma på eventuella fall av bullous pemphigoid.

SUMMARY

Bullous pemphigoid is an autoimmune skin disease leading to separation of the epidermis-dermis-junction. The separation results in a subepidermal blister formation and the patients with this disease also show clinical features as erythema and urticaria. Bullous pemphigoid is the most common autoimmune subepidermal blistering disease in humans, but it can also affect dogs, cats, horses and pigs. The immunological mechanisms causing the disease are not fully understood, even though a lot of research has been done. Even if bullous pemphigoid is much more common in humans compared to other animal species, it is of interest to observe animal homologues of bullous pemphigoid in humans. This might provide information about the immunological mechanisms and thus opportunities to develop the most optimal therapies.

The different studies have resulted in different theories about the components of the immune system being essential for the blister formation. Most of these studies are based on experimental methods using mice. This review will summarise the current knowledge about the immunological mechanisms of bullous pemphigoid.

This autoimmune disease is caused by the production of autoantibodies against the hemidesmosomes of the keratinocytes. The physiological function of the hemidesmosomes in the skin is to form a junction between the keratinocytes and the basement membrane. The autoantibodies against the hemidesmosomes lead to the separation of the epidermis-dermis-junction.

The classical theory about how these antibodies can cause blister formation is based upon the infiltration and activation of complement, mast cells and neutrophils. Together, these components are thought to destruct the hemidesmosomes. Conversely, some studies have shown that bullous pemphigoid can develop without the complement system. These studies suggest that the autoantibodies can stimulate the keratinocytes to degrade their own hemidesmosomes. There are also discussions about the different types of antibodies and their pathogenicity in bullous pemphigoid. The earlier studies focus on IgG-antibodies while recent studies emphasize the role of IgE-antibodies. In future studies, the researchers need to have all of these different theories in mind to be able to understand their combined effects.

Bullous pemphigoid is a relatively uncommon disease in dogs. There are limitations in the availability of the necessary diagnostic tools though, suggesting that bullous pemphigoid could be more common than what is reported. Veterinarians ought to be aware of the disease since it provides a spontaneously arising model of the homologous bullous pemphigoid in humans.

INLEDNING

Bullous pemphigoid (även kallad BP) är en autoimmun subepidermal blåsdermatos (AISBD) som finns beskriven hos människa, hund, katt, gris och häst (Iwasaki *et al.*, 1995; Olivry *et al.*, 1999, 2000a; b). Hos människa är det den vanligaste autoimmuna subepidermala blåsdermatosen och den drabbar framförallt äldre individer med en uppskattad prevalens i Europa på 6,8 fall per miljon människor och år (Marazza *et al.*, 2009). Sjukdomen orsakas av att autoantikroppar bildas mot keratinocyternas hemidesmosomer (Naito *et al.*, 1982; Ishiko *et al.*, 1993) och de som drabbas får blåsor i huden, rodnader och nässelutslag (della Torre *et al.*, 2012).

Hos hund är sjukdomen mindre vanlig då bullous pemphigoid tros utgöra ca 10% av alla AISBD. Några exempel på andra typer av AISBD hos hund är Epidermolysis Bullosa Acquisita (EBA), Mucous Membrane Pemphigoid (MMP) och Linear IgA Disease (LAD). Av dessa är MMP den vanligaste på hund (Olivry, 2014).

Det finns mycket forskning som går ut på att försöka kartlägga den immunologiska mekanismen bakom sjukdomen. Att förstå vilka komponenter i immunförsvaret som är inblandade i utvecklingen av symptomen är viktigt för att effektivt kunna rikta behandlingar mot specifika komponenter. Det är ännu idag inte helt klargjort vad som sker i utvecklingen av bullous pemphigoid, men forskningen är på god väg. Målet med denna litteraturstudie är att sammanställa den forskning som har gjorts på bullous pemphigoid för att försöka kartlägga den immunologiska sjukdomsmekanismen. De flesta av studierna bygger på experimentella försök på möss. I denna litteraturstudie kommer även den kunskap som finns om bullous pemphigoid hos hund att diskuteras.

MATERIAL OCH METODER

Litteraturstudien bygger på artiklar som hittats genom sökningar på databaserna PubMed, Web of Science, Primo, Scopus och Google Scholar. Till en början användes kombinationen ("bullous pemphigoid" OR BP) AND (canin* OR dog OR horse* OR equin* OR human) och kombinationen ("bullous pemphigoid" OR BP OR "autoimmune skin disease") AND (mechanism* OR develop* OR pathogen*). I den senare delen av litteratursökningen användes något smalare sökord som (BPAG1 OR BP180 OR COL17 OR BPAG2 OR BP230 OR NC16A) AND (antibod* OR autoantibod* OR IgG OR IgE OR neutrophil* OR eosinophil* OR "mast cell"). Artiklar har även hittats genom att titta i referenslistan i de artiklar som använts från databaserna. Originalartiklar har prioriterats, men i vissa fall har även översiktsartiklar använts. Genom kontakt via e-post med Universitetsdjursjukhuset i Uppsala har vissa tankar och idéer för arbetet uppkommit.

LITTERATURÖVERSIKT

Antikroppar mot keratinocyternas hemidesmosomer

Hemidesmosomens struktur och funktion

Hemidesmosomer av typ 1 finns basalt på keratinocyter och deras uppgift är att länka samman epidermis och dermis. Det sker genom att hemidesmosomen binder till strukturer i basalmembranet vid lamina lucida och lamina densa. Hemidesmosomen består av fem huvudkomponenter som tillsammans utgör länken mellan keratinocyternas cytoskelett och filamenten i basalmembranet. Dessa komponenter är plectin isoform 1a (P1a), BPAG1 (även kallat BP230), BPAG2 (även kallat BP180), CD151 och integrin $\alpha 6\beta 4$ (Walko *et al.*, 2015). P1a och BPAG1 tillhör plakin-familjen, en grupp av protein som binder till cytoskelett och länkande komplex för att hålla ihop vävnader (Leung *et al.*, 2002). P1a och BPAG1 är de två cytoplasmiska komponenterna i hemidesmosomen vars uppgift är just att koppla samman cytoskelettets keratin med hemidesmosomens extracellulära delar. De komponenter som utgör den extracellulära delen av hemidesmosomen är BPAG2, CD151 och integrin $\alpha 6\beta 4$. Av dessa är det BPAG2 och integrin $\alpha 6\beta 4$ som binder till laminin-332 i basalmembranet. BPAG2 är ett transmembranprotein av typ 2 som består av typ 17-kollagen. På BPAG2 finns det ett område som kallas NC16A-domänen. Denna domän klyvs kontinuerligt vilket leder till att delar av hemidesmosomen stöts ut med jämna mellanrum, en process vars funktion inte är klarlagd (Walko *et al.*, 2015).

BPAG1 och BPAG2

Bullous pemphigoid orsakas av att IgG-autoantikroppar bildas mot strukturer i basalmembranet mellan epidermis och dermis. Detta leder till en separation av de två delarna i huden (Naito *et al.* 1982). Hos människa är det mot hemidesmosomens BPAG1 och BPAG2 som IgG-antikropparna bildas (Ishiko *et al.*, 1993). På BPAG2 är det mot NC16A-domänen som antikropparna bildas och denna domän anses vara det huvudsakliga antigenet i bullous pemphigoid (Giudice *et al.*, 1993). Huruvida autoantikroppar mot BPAG1 orsakar bullous pemphigoid eller inte är en kontroversiell fråga. Det finns experimentella studier som signalerar om dess patogenicitet (Kiss *et al.*, 2005) men det finns även studier som tyder på att autoantikroppar mot BPAG1 inte kan orsaka sjukdomen (Feldrihan *et al.*, 2014). Ett faktum som styrker att proteinet inte är inblandat i blåsbildningen är dess intracellulära lokalisering. Att autoantikroppar bildas mot BPAG1 tros bero på de skador som skett efter att antikroppar bildats mot BPAG2 (Giudice *et al.*, 1993).

På hund, häst, gris och katt har IgG-autoantikroppar identifierats mot BPAG2 hos bullous pemphigoid-patienter inom respektive djurslag. Det tyder på att det finns homologa motsvarigheter till human bullous pemphigoid hos flera djurslag (Iwasaki *et al.*, 1995; Olivry *et al.*, 1999, 2000a; b).

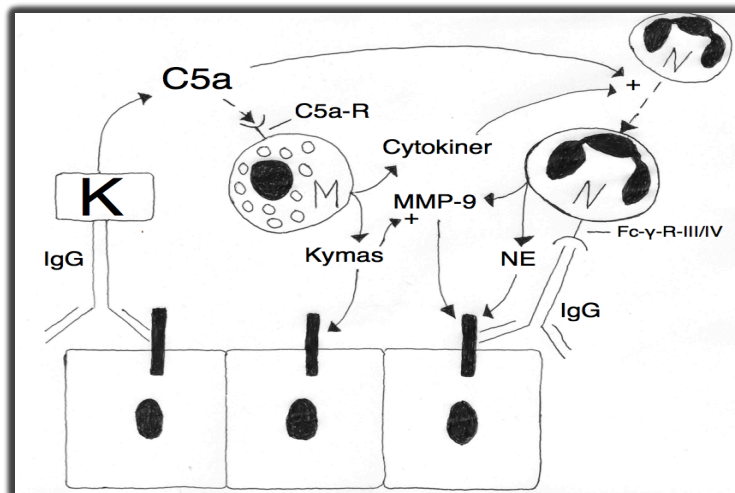
Bullous pemphigoid och experimentella försök

Det finns många typer av experimentella försök, framförallt på möss, som undersöker den immunologiska sjukdomsmekanismen bakom bullous pemphigoid. Eftersom mössens BPAG2 (mBPAG2) och människans BPAG2 ser olika ut har antikroppar från kanin, skapade

för att binda till mBPAG2, använts för att återskapa sjukdomsbilden. Dessa antikroppar har då injicerats i neonatala möss och i senare försök även i adulta möss. Det kallas för passiv överföring och försöken har lett till möjligheter att kunna studera både kliniska och histopatologiska karakteristika i bullous pemphigoid genom att använda mus som modell. Via sådana experimentella försök har det påvisats att komplementfaktorer, neutrofiler, mastceller, IgG-antikroppar (se *Figur 1*) och, i vissa fall, eosinofiler ansamlas i huden kring blåsformationen (Liu *et al.*, 1993; Schulze *et al.*, 2014).

Fairley *et al.* (2007) använde sig av en annan metod där försöket byggde på att human hud transplanterades till möss som sedan fick injektioner med antikroppar från bullous pemphigoid-patienter. Ett annat sätt att studera sjukdomen på är genom att använda tunna snitt av human hud som sedan inkuberas tillsammans med serum från patienter (Messingham *et al.*, 2016).

Komplement, mastceller och neutrofiler



*Figur 1. En schematisk beskrivning av den immunologiska mekanismen med antikroppar (IgG), komplementaktivering (K), mastceller (M) och neutrofiler (N). Figuren är baserad på resultat från flera olika studier (Liu *et al.*, 1995, 1997, 1998, 2000; Chen *et al.*, 2001; Heimbach *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2011; Schulze *et al.*, 2014).*

Komplementsystemet

I det medfödda immunförsvaret mot patogener eller förändrade kroppsegna celler är komplementsystemet en viktig komponent. Aktivering av komplementsystemet kan ske via den klassiska vägen, den alternativa vägen och lektin-vägen. Den klassiska vägen sker via antikropparna IgG eller IgM och den alternativa vägen sker spontant. Komplementfaktorerna kan både opsonisera patogener (C3b) men även verka genom att sätta igång en inflammationskaskad (C3a och C5a). Mot patogener kan komplementfaktorerna dessutom leda till direkt lysering. Även när kroppens egna celler går i apoptos kan komplementsystemet aktiveras, på ett kontrollerat sätt, för att dessa celler ska förstöras utan att en inflammation sätts igång (Merle *et al.*, 2015).

Komplementsystemets roll i utvecklingen av blåsbildningen i bullous pemphigoid är omdiskuterad, men tidiga experimentella studier som gjorts indikerar att komplementaktivering krävs för att sjukdomen ska utvecklas. Genom att injicera bullous pemphigoid-antikroppar från kanin i C5-defekta neonatala möss kunde Liu *et al.* (1995) inte inducera bullous pemphigoid. Samma sak sågs vid injektion av endast Fab-delen (som inte kan aktivera komplementsystemet) av antikroppar mot mBPAG2. Mössen i dessa två försök fick ingen betydande subepidermal neutrofilinfiltration vilket tyder på att komplementsystemet först måste aktiveras av autoantikropparna i bullous pemphigoid för att de inflammatoriska cellerna sedan ska komma på plats (Liu *et al.*, 1995). Vid utvecklingen av bullous pemphigoid kan komplementsystemet aktiveras av både den klassiska vägen eller den alternativa vägen (Nelson *et al.*, 2006).

Mastceller

Mastceller är mest förknippade med allergiska reaktioner i samspel med IgE. Det finns dock flera fysiologiska funktioner för mastceller i kroppen. Dessa celler finns framförallt ute i vävnaderna där det finns störst risk att stöta på patogener. De har en viktig roll i det tidiga immunförsvaret då de tidigt kan upptäcka patogener. Mastceller har även en funktion vid reparation av vävnader, sårhäkning och nybildning av kärl (Da Silva *et al.*, 2014). De anses också ha en avgörande roll, tillsammans med IgE, i försvaret mot olika gifter som till exempel ormgift (Galli, 2016). Mastceller kan aktiveras av att IgE interagerar med Fc-ε-R-I eller via toll-liknande receptorer som reagerar på strukturer på patogener (PAMP). Andra sätt som mastceller kan aktiveras på är bland annat via cytokiner, komplementfaktorer och tillväxtfaktorer. En aktiverad mastcell kan utsöndra flera olika mediatorer. Några av dessa mediatorer är proteaser som kymas och tryptas, cytokiner, histamin, leukotriener och eikosanoider (Da Silva *et al.*, 2014).

Vid utveckling av bullous pemphigoid kan mastcellen aktiveras genom att komplementfaktor C5a interagerar med C5a-receptorn (C5a-R). Det leder i sin tur till en aktivering av signalmolekylen p38 MAPK som gör att mastcellsdegranulering och frisläppande av proinflammatoriska cytokiner kan ske. Utan denna mekanism utvecklas inte bullous pemphigoid i experimentella försök på möss (Heimbach *et al.*, 2011). Mastcellsdegranuleringen sker innan neutrofilinfiltration och blåsbildning vilket tyder på att mastcellens roll i sjukdomens utveckling är att rekrytera granulocyter (Chen *et al.*, 2001). Ett utav mastcellens proteas, mastcellskymas, tycks vara en viktig komponent genom att enzymet aktiverar neutrofilernas enzym matrix-metalloproteinase (MMP-9) som i sin tur bryter ned matrix i huden (se *Figur 1*). Dessutom kan mastcellskymas på egen hand klyva BPAG2 vilket också bidrar till separation av epidermis och dermis (Lin *et al.*, 2011).

Neutrofiler

Neutrofiler är huvudsakligen viktiga i det medfödda immunförsvaret genom att vara den första leukocyten på plats vid infektion. Genom fagocytos eller genom att utsöndra så kallade "neutrophil extracellular traps" (NET's) som innehåller bland annat neutrofilelastas (NE) kan neutrofilerna förstöra patogener. Neutrofiler kan aktiveras genom att deras "pattern-recognition-receptors" (PRR) reagerar på PAMP. Ett annat sätt som dessa celler kan aktiveras

på är genom att binda in till opsoniserande strukturer som IgG eller komplementfaktor C3b (Mayadas *et al.*, 2014).

Vid bullous pemphigoid sker neutrofilinfiltration efter att IgG-antikroppar bundit till hemidesmosomen och att komplementsystemet aktiverats. Komplementfaktor C5a är viktig i rekryteringen av neutrofilerna. Neutrofilernas närvaro och aktivitet är, precis som mastceller och komplementfaktorer, också essentiell för att sjukdomen ska utvecklas (Liu *et al.*, 1997). Enzymet MMP-9 från neutrofilerna orsakar vävnadsskada och krävs i experimentella försök på möss för att separation av dermis och epidermis ska inträffa (Liu *et al.*, 1998). Neutrofilelastas har också en avgörande roll i separationen av epidermis och dermis (Liu *et al.*, 2000). Fc- γ -R-III/IV uttrycks på bland annat neutrofiler och genom att blockera dessa receptorer, och därmed också neutrofilernas bindning till IgG-autoantikropparna, förhindrades utvecklingen av bullous pemphigoid. Detta tyder också på neutrofilernas avgörande roll i sjukdomen, men även att det sker på ett Fc-R-beroende sätt (Schulze *et al.*, 2014).

Utveckling av bullous pemphigoid utan komplementsystemet

Trots de tidigare nämnda studierna som bevisar komplementfaktorernas avgörande roll har nyare studier ifrågasatt komplementsystemets betydelse i bullous pemphigoid. Det finns rapporter om bullous pemphigoid-patienter utan komplementaktivering där IgG4 isolerats snarare än IgG1. IgG4 aktiverar inte komplementsystemet, vilket IgG1 gör, men verkar alltså ändå kunna orsaka bullous pemphigoid (Dainichi *et al.*, 2016). Dessutom har C3-defekta möss i studier kunnat utveckla bullous pemphigoid genom att få antikroppar injicerade mot BPAG2 vilket ger ytterligare bevis för att sjukdomen kan utvecklas utan komplementsystemet. Nedbrytningen av BPAG2 har då istället medierats via proteasom/ubiquitin-vägen (Ujiie *et al.*, 2014) efter att keratinocyterna tagit upp sina egna hemidesmosomer, en process som kallas internalisation (Hiroyasu *et al.*, 2013).

Autoantikropparna kan dessutom stimulera keratinocyterna till att producera IL-6 och IL-8 vilket gör att de, utan komplementsystemets hjälp, kan rekrytera neutrofiler och därmed sätta igång en inflammation (Messingham *et al.*, 2011). Dessa studier tyder alltså på att antikropparna mot BPAG2, utan komplementaktiveringen, kan orsaka skadorna som uppstår i bullous pemphigoid.

IgE som patogen antikropp i bullous pemphigoid

IgE-antikroppars och eosinofilers funktion i immunförsvaret

Som tidigare nämnts är IgE och mastceller framförallt förknippade med allergiska reaktioner. IgE-antikroppen verkar genom att binda till Fc- ϵ -receptorer på celler som basofiler, mastceller och eosinofiler och denna antikropp fyller en funktion i kroppen vid försvaret mot rundmaskar. Eosinofiler och mastceller kan då aktiveras av IgE-antikroppar vilket leder till sekretion av proteiner som krävs för att döda parasiten (Amarasekera, 2011).

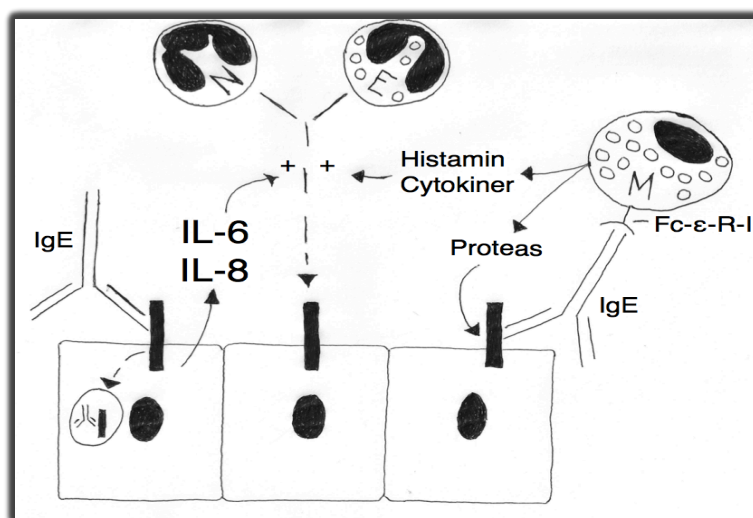
IgE och eosinofiler i bullous pemphigoid

IgG har varit den mest studerade antikroppen i bullous pemphigoid, men patienters serum och biopsier har även visat höga nivåer av IgE mot BPAG2 vilket har inspirerat forskare till att

undersöka IgE-antikropparnas patogenicitet vid bullous pemphigoid. Studier har visat att möss med transplanterad human hud (innehållande humana BPAG2) får, vid IgE-antikroppar mot BPAG2, effekter som är karakteristiska för den tidiga fasen av bullous pemphigoid. Detta omfattar nässelutslag på huden, mastcellsdegranulering, neutrofilinfiltration och eosinofilinfiltration (Fairley *et al.*, 2007).

Eosinofilinfiltration och nässelutslag är karakteristiskt i bullous pemphigoid hos människa, men dessa effekter har inte blivit återskapade i mer än enstaka försök på djur, något som kan bero på att försöken framför allt gjorts med enbart IgG-antikroppar och inte IgE. Genom att skapa IgE-antikroppar mot den struktur som bildas då NC16A-domänen på BPAG2 kontinuerligt klyvs sågs eosinofilinfiltration i ett experimentellt försök på möss (Zone *et al.*, 2007). Eosinofilernas patogenicitet i bullous pemphigoid är dock ännu inte helt kartlagd men eosinofilernas lokalisering till övergången mellan epidermis och dermis har visats vara beroende av IgG-antikroppar och komplementaktivering. IgE-antikropparna tycks alltså inte ha någon direkt effekt på eosinofilerna i sjukdomsförloppet. De aktiverar istället mastceller som via sina mediatorer kan aktivera eosinofilerna (Messingham *et al.*, 2016). IgE-antikropparna kan inte aktivera komplementsystemet utan aktiverar alltså mastcellen direkt vilket leder till produktion av histamin och andra mediatorer som i sin tur leder till rekrytering av inflammatoriska celler, men även proteas som direkt kan förstöra epidermis-dermis-länken (Fairley *et al.*, 2007).

IgE-antikroppar mot BPAG2 har dessutom visats ha förmågan att orsaka komplementoberoende mekanismer som internalisation och produktion av IL-6 och IL-8 genom direkt påverkan på keratinocyterna. IgE kan på så sätt påverka keratinocyterna direkt genom att binda in till dem på samma sätt som IgG gör (Messingham *et al.*, 2011). IgE-antikropparna kan alltså orsaka skada på flera olika sätt vid bullous pemphigoid (se *Figur 2*).



*Figur 2. En schematisk beskrivning över IgE-antikropparnas patogenicitet i bullous pemphigoid i samspel med mastceller (M), neutrofiler (N) och eosinofiler (E). Figuren baseras på information från ovan nämnda studier (Fairley *et al.*, 2007; Zone *et al.*, 2007; Messingham *et al.*, 2011, 2016).*

Bullous pemphigoid hos hund

Bullous pemphigoid hos hund karakteriseras precis som hos människa av antikroppar mot hemidesmosomens BPAG2 (Iwasaki *et al.*, 1995). Antikropparna utgörs framförallt av isotyperna IgG1 och IgG4, men även vissa nivåer av IgE har påvisats (Favrot *et al.*, 2003). Kliniskt syns blåsor och rodnader medan histopatologiska undersökningar visar dermal-epidermal separation samt infiltration av neutrofiler, eosinofiler och mastceller (Iwasaki *et al.*, 1995). En skillnad mellan bullous pemphigoid hos djur och människa är att äldre individer inte drabbas mer frekvent hos djur (Olivry & Chan, 2001). Man har inte heller konstaterat någon rasprekvalitet hos hund (Olivry & Jackson, 2001).

För att fullständigt kunna diagnostisera sjukdomen behövs immunologiska verktyg där antigenet, NC16A-domänen på BPAG2, identifieras och detta kan endast göras på väldigt få kliniker (Olivry & Jackson, 2001). Eftersom sjukdomen är relativt ovanlig hos hund samt att forskning inom området är dyrt lär veterinärer fortsättningsvis behöva förlita sig på sin egen bedömningsförmåga snarare än diagnostiska verktyg. Veterinärer kommer troligen alltid behöva bedöma olika AISBD utifrån kliniska symptom, histopatologi men även med hänsyn till hur vanliga de olika typerna av AISBD är (Olivry, 2014). Att uppmärksamma fall av bullous pemphigoid hos hund, och andra djurslag, är dock viktigt då de kan fungera som modell för sjukdomen hos människa (Olivry & Chan, 2001).

DISKUSSION

Att kartlägga den immunologiska sjukdomsmekanismen bakom bullous pemphigoid är ingen lätt uppgift med tanke på de olika forskningsresultatens paradoxala slutsatser. Trots att varje studie faktiskt mer eller mindre bevisar en viss del av sjukdomsmekanismen bör det uppmärksammas att de flesta teorier och resonemang bygger på experimentella försök. Det finns i dagsläget ingen helt kartlagd mekanism bakom utvecklingen av bullous pemphigoid, det gäller därför att kritiskt granska och tolka de olika studierna för att kunna måla upp en bild av förloppet. Det krävs god kunskap om de tidigare studierna för att kunna hitta nya relevanta idéer till försök som i framtiden kan leda till en helt kartlagd sjukdomsmekanism och således en optimal behandlingsmetod.

Liu *et al.* (1993) började med att injicera BPAG2-antikroppar, från kanin, i neonatala möss och kunde då återskapa både kliniska och histopatologiska karakteristika i bullous pemphigoid. Dessa typer av experimentella försök är väldigt detaljerade och därmed ofta noggrant genomförda. En brist i denna experimentella metod är dock att försöken är gjorda på neonatala möss. Då sjukdomen hos människa framförallt drabbar äldre individer borde försöken ha gjorts på adulta möss istället, för att skapa så lika förutsättningar som möjligt (Schulze *et al.*, 2014). Skillnader i hur långt immunförsvaret hunnit utvecklas kan ha en avgörande roll i hur sjukdomsförloppet ser ut. Ujiie *et al.* (2014) använde både neonatala och adulta möss för att undersöka de komplementoberoende mekanismerna i bullous pemphigoid, något som kan anses vara mer tillförlitligt. Resultaten från den studien säger emot de resultat som Liu *et al.* (1995) fann om att aktivering av komplementsystemet är essentiellt för sjukdomen. Istället tycks alltså antikropparna kunna stimulera keratinocyterna direkt till att ”äta upp” hemidesmosomen och producera pro-inflammatoriska cytokiner (Messingham *et*

al., 2011; Hiroyasu *et al.*, 2013). Det behöver inte vara så att den ena studien har rätt och att den andra har fel. Bullous pemphigoid skulle kunna finnas i olika varianter, alternativt att alla olika vägar sker men i olika faser av sjukdomsutvecklingen.

De nyare studierna som diskuterar IgE-antikropparnas roll i sjukdomsutvecklingen bygger på att tidigare experimentella försök med IgG-antikroppar har misslyckats med att återskapa alla händelser i sjukdomsförloppet samt att höga nivåer av IgE faktiskt har påvisats i patienter. Att IgE-antikropparna verkar ha en avgörande roll i rekryteringen av eosinofiler kan förklara varför de tidigare studierna inte lyckats iscensätta just den mekanismen. Att försöken med IgE-antikroppar ledde till nässelutslag skulle kunna spegla samspelet mellan IgE och mastceller i allergiska reaktioner (Fairley *et al.*, 2007; Galli, 2016). Även i diskussionen om de olika typerna av inblandade antikroppar tycks det inte vara svart eller vitt utan snarare ett samspel mellan effekterna av både IgG och IgE. Då IgG aktiverar komplementsystemet (Liu *et al.*, 1995) verkar IgE spela en roll i aktiveringen av mastceller (Messingham *et al.*, 2016).

Att de olika studierna bevisar olika saker, till exempel att komplementaktivering krävs (Liu *et al.*, 1995) jämfört med att komplementsystemet inte krävs (Ujiie *et al.*, 2014), behöver alltså inte betyda att någon måste ha fel. Det kan vara så att alla de mekanismer som studerats behövs för att tillsammans leda till det som kallas bullous pemphigoid. Ju mer information och ju fler teorier som finns om förloppet, desto bättre möjlighet finns det för att de mest optimala behandlingsmetoderna upptäcks. Efter att IgE-antikropparnas roll påvisades undersöktes effekten av att behandla med antikroppar mot just IgE. Detta gav en positiv effekt hos patienterna och kan därmed räknas som ett framsteg (Yu *et al.*, 2014). De fynd som indikerar att mastcellskymas, neutrofilelastas och MMP-9 har en avgörande roll för utvecklingen av bullous pemphigoid öppnar upp för att kommande studier kan utreda behandlingseffekt av läkemedel som hämmar just något av dessa enzym (Liu *et al.*, 1998, 2000; Lin *et al.*, 2011). Det återstår att se hur effekterna av dessa läkemedel fungerar.

Eosinofilernas roll i sjukdomen är som tidigare nämnts inte tillräckligt utredd då man misslyckats med att få eosinofilinfiltration att inträffa i de flesta experimentella försök (Zone *et al.*, 2007). Framtida studier bör därför fokusera på eosinofilernas roll i förloppet med avseende på vilka enzym och receptorer som aktiverar dem samt vad i eosinofilernas granula som är av vikt för utvecklingen av bullous pemphigoid. Kommande studier borde också fokusera på samverkande mekanismer, istället för att endast studera enstaka mekanismer, för att kunna få en bild av hur de olika komponenterna förhåller sig till varandra samt hur stor roll de har jämfört med de andra.

Det är även viktigt att förstå vad som orsakar uppkomsten av autoantikropparna i bullous pemphigoid. Detta är ett stort forskningsområde i sig och har därför inte kunnat få utrymme i denna litteraturstudie. Denna mekanism är inte heller helt klarlagd men det finns teorier om olika inducerande faktorer. Först och främst verkar det finnas en genetisk predisponering för sjukdomen. Faktorer som läkemedelsbehandlingar, kirurgiska ingrepp, brännskador, röntgenstrålning, UV-strålning, infektioner och transplantationer tros sedan kunna inducera bildandet av autoantikropparna i de genetiskt predisponerade individerna. Detta område

kräver ytterligare studier då många av teorierna bygger på enstaka fallbeskrivningar (Lo Schiavo *et al.*, 2013).

Sjukdomen har påvisats hos flera olika djurslag där samma typ av antikroppar (IgG) har hittats. Spontant uppkommen bullous pemphigoid hos häst, hund, katt och gris kan med fördel studeras för att få nödvändig information om sjukdomen hos människa. Även om den inte är vanlig hos våra sällskapsdjur bör det alltså vara av stor vikt att utreda sjukdomen hos dessa djurslag också då det, till skillnad från de experimentella försöken, handlar om spontant uppkomna varianter av bullous pemphigoid (Iwasaki *et al.*, 1995; Olivry *et al.*, 1999, 2000a; b).

Olivry (2014) hävdar att veterinärer förmodligen aldrig kommer kunna diagnostisera bullous pemphigoid fullständigt. Därmed bör denna sjukdom per definition vara rejält underdiagnostiserad. Det kan vara en anledning till att sjukdomen inte anses vara lika vanlig hos hund som hos människa. Dermatoser i allmänhet hos hund är ett vanligt kliniskt problem vilket innebär att om diagnostiska verktyg för bullous pemphigoid skulle finnas lättillgängliga skulle den faktiska prevalensen kunna öka markant. Poängen, hursomhelst, är att det kan vara dumdrigt att förneka sjukdomens existens hos våra sällskapsdjur då det kan vara en väg till att hitta den optimala behandlingen på humansidan, där sjukdomen trots allt är ett stort problem.

REFERENSLISTA

- Amarasekera, M. (2011). Immunoglobulin E in health and disease. *Asia Pacific Allergy*, 1: 12.
- Chen, R., Ning, G., Zhao, M.-L., Fleming, M. G., Diaz, L. A., Werb, Z. & Liu, Z. (2001). Mast cells play a key role in neutrophil recruitment in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Clinical Investigation*, 108: 1151–1158.
- Dainichi, T., Nishie, W., Yamagami, Y., Sonobe, H., Ujiie, H., Kaku, Y. & Kabashima, K. (2016). Bullous pemphigoid suggestive of complement-independent blister formation with anti-BP180 IgG4 autoantibodies. *British Journal of Dermatology*. doi: 10.1111/bjd.14411. 2016-02-08
- Da Silva, E. Z. M., Jamur, M. C. & Oliver, C. (2014). Mast Cell Function A New Vision of an Old Cell. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 62: 698–738.
- Fairley, J. A., Burnett, C. T., Fu, C.-L., Larson, D. L., Fleming, M. G. & Giudice, G. J. (2007). A pathogenic role for IgE in autoimmunity: bullous pemphigoid IgE reproduces the early phase of lesion development in human skin grafted to nu/nu mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 127: 2605–2611.
- Favrot, C., Dunston, S. M., Paradis, M. & Olivry, T. (2003). Isotype determination of circulating autoantibodies in canine autoimmune subepidermal blistering dermatoses. *Veterinary Dermatology*, 14: 23–30.
- Feldrihan, V., Licarete, E., Florea, F., Cristea, V., Popescu, O., Sitaru, C. & Chiriac, M. T. (2014). IgG antibodies against immunodominant C-terminal epitopes of BP230 do not induce skin blistering in mice. *Human Immunology*, 75: 354–363.
- Galli, S. J. (2016). The Mast Cell-IgE Paradox: From Homeostasis to Anaphylaxis. *The American Journal of Pathology*, 186: 212–224.
- Giudice, G. J., Emery, D. J., Zelicson, B. D., Anhalt, G. J., Liu, Z. & Diaz, L. A. (1993). Bullous pemphigoid and herpes gestationis autoantibodies recognize a common non-collagenous site on the BP180 ectodomain. *The Journal of Immunology*, 151: 5742–5750.

- Heimbach, L., Li, Z., Berkowitz, P., Zhao, M., Li, N., Rubenstein, D. S., Diaz, L. A. & Liu, Z. (2011). The C5a Receptor on Mast Cells Is Critical for the Autoimmune Skin-blistering Disease Bullous Pemphigoid. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 15003–15009.
- Hiroyasu, S., Ozawa, T., Kobayashi, H., Ishii, M., Aoyama, Y., Kitajima, Y., Hashimoto, T., Jones, J. C. & Tsuruta, D. (2013). Bullous pemphigoid IgG induces BP180 internalization via a macropinocytic pathway. *The American Journal of Pathology*, 182: 828–840.
- Ishiko, A., Shimizu, H., Kikuchi, A., Ebihara, T., Hashimoto, T. & Nishikawa, T. (1993). Human autoantibodies against the 230-kD bullous pemphigoid antigen (BPAG1) bind only to the intracellular domain of the hemidesmosome, whereas those against the 180-kD bullous pemphigoid antigen (BPAG2) bind along the plasma membrane of the hemidesmosome in normal human and swine skin. *Journal of Clinical Investigation*, 91: 1608–1615.
- Iwasaki, T., Olivry, T., Lapiere, J. C., Chan, L. S., Peavey, C., Liu, Y. Y., Jones, J. C. R., Ihrke, P. J. & Woodley, D. T. (1995). Canine bullous pemphigoid (BP): identification of the 180-kd canine BP antigen by circulating autoantibodies. *Veterinary Pathology Online*, 32: 387–393.
- Kiss, M., Husz, S., Jánossy, T., Marczinovits, I., Molnár, J., Korom, I. & Dobozy, A. (2005). Experimental bullous pemphigoid generated in mice with an antigenic epitope of the human hemidesmosomal protein BP230. *Journal of Autoimmunity*, 24: 1–10.
- Leung, C. L., Green, K. J. & Liem, R. K. (2002). Plakins: a family of versatile cytolinker proteins. *Trends in Cell Biology*, 12: 37–45.
- Lin, L., Bankaitis, E., Heimbach, L., Li, N., Abrink, M., Pejler, G., An, L., Diaz, L. A., Werb, Z. & Liu, Z. (2011). Dual Targets for Mouse Mast Cell Protease-4 in Mediating Tissue Damage in Experimental Bullous Pemphigoid. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 37358–37367.
- Liu, Z., Diaz, L. A., Troy, J. L., Taylor, A. F., Emery, D. J., Fairley, J. A. & Giudice, G. J. (1993). A passive transfer model of the organ-specific autoimmune disease, bullous pemphigoid, using antibodies generated against the hemidesmosomal antigen, BP180. *Journal of Clinical Investigation*, 92: 2480-2488.
- Liu, Z., Giudice, G. J., Swartz, S. J., Fairley, J. A., Till, G. O., Troy, J. L. & Diaz, L. A. (1995). The role of complement in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Clinical Investigation*, 95: 1539-1544.
- Liu, Z., Giudice, G. J., Zhou, X., Swartz, S. J., Troy, J. L., Fairley, J. A., Till, G. O. & Diaz, L. A. (1997). A major role for neutrophils in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Clinical Investigation*, 100: 1256–1263.
- Liu, Z., Shapiro, S. D., Zhou, X., Twining, S. S., Senior, R. M., Giudice, G. J., Fairley, J. A. & Diaz, L. A. (2000). A critical role for neutrophil elastase in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Clinical Investigation*, 105: 113–123.
- Liu, Z., Shipley, J. M., Vu, T. H., Zhou, X., Diaz, L. A., Werb, Z. & Senior, R. M. (1998). Gelatinase B-deficient mice are resistant to experimental bullous pemphigoid. *The Journal of Experimental Medicine*, 188: 475–482.
- Lo Schiavo, A., Ruocco, E., Brancaccio, G., Caccavale, S., Ruocco, V. & Wolf, R. (2013). Bullous pemphigoid: Etiology, pathogenesis, and inducing factors: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology*, 31: 391–399.
- Marazza, G., Pham, H. C., Schärer, L., Pedrazzetti, P. P., Hunziker, T., Trüeb, R. M., Hohl, D., Itin, P., Lautenschlager, S., Naldi, L., Borradori, L. & the autoimmune bullous disease Swiss study group (2009). Incidence of bullous pemphigoid and pemphigus in Switzerland: a 2-year prospective study. *British Journal of Dermatology*, 161: 861–868.
- Mayadas, T. N., Cullere, X. & Lowell, C. A. (2014). The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9: 181–218.
- Merle, N. S., Church, S. E., Fremeaux-Bacchi, V. & Roumenina, L. T. (2015). Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. *Frontiers in Immunology*, 6: 1-30.

- Messingham, K. N., Srikantha, R., DeGueme, A. M. & Fairley, J. A. (2011). FcR-Independent Effects of IgE and IgG Autoantibodies in Bullous Pemphigoid. *The Journal of Immunology*, 187: 553–560.
- Messingham, K. N., Wang, J. W., Holahan, H. M., Srikantha, R., Aust, S. C. & Fairley, J. A. (2016). Eosinophil localization to the basement membrane zone is autoantibody- and complement-dependent in a human cryosection model of bullous pemphigoid. *Experimental Dermatology*, 25: 50–55.
- Naito, K., Morioka, S. & Ogawa, H. (1982). The pathogenic mechanisms of blister formation in bullous pemphigoid. *The Journal of Investigative Dermatology*, 79: 303–306.
- Nelson, K. C., Zhao, M., Schroeder, P. R., Li, N., Wetsel, R. A., Diaz, L. A. & Liu, Z. (2006). Role of different pathways of the complement cascade in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Clinical Investigation*, 116: 2892–2900.
- Olivry, T. (2014). An autoimmune subepidermal blistering skin disease in a dog? The odds are that it is not bullous pemphigoid. *Veterinary Dermatology*, 25: 316–318.
- Olivry, T., Borrillo, A. K., Xu, L., Dunston, S. M., Slovis, N. M., Affolter, V. K., Demanuelle, T. C. & Chan, L. S. (2000a). Equine bullous pemphigoid IgG autoantibodies target linear epitopes in the NC16A ectodomain of collagen XVII (BP180, BPAG2). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 73: 45–52.
- Olivry, T. & Chan, L. S. (2001). Autoimmune blistering dermatoses in domestic animals. *Clinics in Dermatology*, 19: 750–760.
- Olivry, T., Chan, L. S., Xu, L., Chace, P., Dunston, S. M., Fahey, M. & Marinkovich, M. P. (1999). Novel feline autoimmune blistering disease resembling bullous pemphigoid in humans: IgG autoantibodies target the NC16A ectodomain of type XVII collagen (BP180/BPAG2). *Veterinary Pathology Online*, 36: 328–335.
- Olivry, T. & Jackson, H. A. (2001). Diagnosing new autoimmune blistering skin diseases of dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 16(4), pp 225–229.
- Olivry, T., Mirsky, M. L., Singleton, W., Dunston, S. M., Borrillo, A. K., Xu, L., Traczyk, T., Rosolia, D. L. & Chan, L. S. (2000b). A spontaneously arising porcine model of bullous pemphigoid. *Archives of Dermatological Research*, 292: 37–45.
- Schulze, F. S., Beckmann, T., Nimmerjahn, F., Ishiko, A., Collin, M., Köhl, J., Goletz, S., Zillikens, D., Ludwig, R. & Schmidt, E. (2014). Fcγ receptors III and IV mediate tissue destruction in a novel adult mouse model of bullous pemphigoid. *The American Journal of Pathology*, 184: 2185–2196.
- della Torre, R., Combescure, C., Cortés, B., Marazza, G., Beltraminelli, H., Naldi, L. & Borradori, L. (2012). Clinical presentation and diagnostic delay in bullous pemphigoid: a prospective nationwide cohort: Clinical presentation and diagnostic delay in BP. *British Journal of Dermatology*, 167: 1111–1117.
- Ujiie, H., Sasaoka, T., Izumi, K., Nishie, W., Shinkuma, S., Natsuga, K., Nakamura, H., Shibaki, A. & Shimizu, H. (2014). Bullous Pemphigoid Autoantibodies Directly Induce Blister Formation without Complement Activation. *The Journal of Immunology*, 193: 4415–4428.
- Walko, G., Castañón, M. J. & Wiche, G. (2015). Molecular architecture and function of the hemidesmosome. *Cell and Tissue Research*, 360: 363–378.
- Yu, K. K., Crew, A. B., Messingham, K. A. N., Fairley, J. A. & Woodley, D. T. (2014). Omalizumab therapy for bullous pemphigoid. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 71: 468–474.
- Zone, J. J., Taylor, T., Hull, C., Schmidt, L. & Meyer, L. (2007). IgE basement membrane zone antibodies induce eosinophil infiltration and histological blisters in engrafted human skin on SCID mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 127: 1167–1174.