

Pathogenetische Bedeutung von Antikörpern gegen Desmoglein 3 bei Patienten mit oralem Lichen planus

Pathogenic relevance of antibodies against desmoglein 3 in patients with oral lichen planus

Dario Didona¹ | Morna F. Schmidt² | Katharina Meier³ | Alberto Mesas-Fernandez³ | Roberto Maglie⁴ | Emiliano Antiga⁴ | Marisa Klemp³ | Amir S. Yazdi² | Kamran Ghoreschi³ | Michael Hertl¹ | Christian Möbs¹ | Farzan Solimani^{3,5} 

¹Abteilung für Dermatologie und Allergologie, Philipps-Universität Marburg

²Klinik für Dermatologie und Allergologie, Universitätsklinik RWTH Aachen

³Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, korporatives Mitglied der Freien Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin und Berliner Institut für Gesundheit, Berlin

⁴Sektion für Dermatologie, Abteilung für Gesundheitswissenschaften, Universität Florenz, Florenz, Italien

⁵Berlin Institute of Health an der Charité – Universitätsmedizin Berlin, BIH Biomedical Innovation Academy, BIH Charité Clinician Scientist Program, Berlin

Korrespondenzanschrift

Dr. med. Farzan Solimani, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Luisenstraße 2, 10117 Berlin.
Email: farzan.solimani@charite.de

Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele: Der orale Lichen planus (OLP) ist eine T-Zell-gesteuerte Erkrankung, welche die Lebensqualität der Betroffenen erheblich beeinträchtigt. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl zelluläre als auch humorale gegen Desmoglein (Dsg) 1 und 3 gerichtete Mechanismen an der Pathogenese des OLP beteiligt sein könnten. Hier sollen die Häufigkeit des Auftretens und die pathologische Bedeutung von Anti-Dsg-Antikörpern anhand einer großen Kohorte von OLP-Patienten analysiert werden.

Material und Methodik: Mittels eines ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) wurden Seren von OLP-Patienten aus drei tertiären Referenzzentren auf Anti-Dsg-Antikörper untersucht. OLP-Seren, die Anti-Dsg-Antikörper aufwiesen, wurden mittels Western Blot und Disphase-basiertem Keratinozyten-Dissoziations-Assay (DDA) analysiert, um eine mögliche Bindungsstelle an der Dsg-Ektodomäne zu identifizieren und ihre Pathogenität zu bewerten.

Ergebnisse: Es wurden Seren von 151 Patienten mit OLP untersucht, wobei vier Patienten (2,6%) mit erosivem Subtyp Antikörper gegen Dsg1 und/oder Dsg3 aufwiesen. Die Western-Blot-Analyse mit rekombinanten Dsg3-Ektodomänen ergab hauptsächlich die Erkennung der Ektodomäne 5. Keines der vier Patientenserum führte im DDA mit spontan immortalisierten menschlichen Keratinozyten zur Akantholyse.

Schlussfolgerungen: Die Aktivierung der humoralen Immunität tritt vor allem bei Patienten mit erosivem OLP auf, wahrscheinlich aufgrund eines *epitope spreading*. Da die OLP-Serumantikörper *in vitro* keinen Effekt auf die interzelluläre Adhäsion haben, ist davon auszugehen, dass sie nicht ursächlich für die Krankheit sind, sondern eher eine Nebenerscheinung darstellen.

SCHLÜSSELWÖRTER

Autoantikörper, Desmoglein 3, Orale Lichen planus

Dario Didona und Morna F. Schmidt haben gleichermaßen zu dieser Arbeit beigetragen.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2024 The Author(s). *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of Deutsche Dermatologische Gesellschaft.

Summary

Background and objectives: Oral lichen planus (OLP) is a T cell driven disorder that significantly impairs patients' quality of life. Previous reports suggest that both cellular and humoral activities against desmoglein (dsg) 1 and 3 may be involved in OLP pathogenesis. Here, we aim to analyze the frequency of occurrence and pathological significance of anti-dsg antibodies in a large cohort of OLP patients.

Materials and methods: OLP patients were screened for anti-dsg antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay in three tertiary referral centers. OLP sera with anti-dsg antibodies were further analyzed by Western blot and dispase-based keratinocyte dissociation assay (DDA) to identify the targeted dsg ectodomains and to assess their pathogenicity.

Results: Of 151-screened individuals with OLP, only four patients (2.6%) with erosive OLP showed serum IgG against dsg1/3. Western blot analysis with recombinant dsg3 ectodomains revealed preferential recognition of the extracellular domain 5. By DDA with spontaneously immortalized human keratinocytes, none of the sera from these four patients induced acantholysis.

Conclusions: Activation of humoral immunity occurs prevalently in patients with erosive OLP, probably due to epitope spreading. OLP serum antibodies are unable to induce loss of intercellular adhesion in vitro, strongly suggesting that they are not disease causing but rather an epiphenomenon.

KEYWORDS

autoantibodies, desmoglein 3, oral Lichen planus

EINLEITUNG

Lichen planus (LP) ist eine häufige entzündliche Hauterkrankung des Menschen, die hauptsächlich Haut, Schleimhaut und/oder die Kopfhaut betrifft.¹ Der orale Lichen planus (OLP) bildet eine stark beeinträchtigende, oft behandlungsresistente Unterform und manifestiert sich an der Mundschleimhaut. Es werden zwei klinische Haupttypen beschrieben: OLP-Typ I (Plaque-Typ) ist gekennzeichnet durch das Vorhandensein von Papeln und Plaques, die ein weißes, spitzenförmiges Netzwerk aufweisen, das als Wickham-Streifen bezeichnet wird. Der OLP-Typ II (erosiver Typ) ist seltener, aber aggressiver und klinisch durch ausge dehnte Erosionen gekennzeichnet, die auch auf die Speiseröhre übergreifen können. Der Plaque-Typ ist in der Regel leichter zu behandeln als die erosive Form. Letztere ist nicht nur therapieresistenter, sondern auch schmerzhafter und führt durch die Beeinträchtigung der Nahrungsaufnahme zu einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität.² Darüber hinaus kann die chronische Entzündungsreaktion zur Bildung von Strikturen und/oder Narben führen und ist mit einem erhöhten Risiko einer malignen Transformation verbunden.³ Beim OLP ist vor allem die zelluläre Immunität pathogenetisch relevant. Gemischte CD4⁺/CD8⁺ Typ I/Interferon (IFN)- γ -sezernierende T-Zellen wandern in die Haut ein, lagern sich in der oberflächlichen Dermis ab und erzeugen das histologische LP-Merkmal eines bandartigen lymphozytären Infiltrats. Die Sekretion

von Zytokinen führt direkt zur Schädigung und Apoptose der basalen Keratinozyten.⁴⁻⁵

Das Autoantigen, das beim OLP die Migration von T-Zellen in die Haut auslöst, ist unbekannt. Krankheiten wie der Lichen planus pemphigoides und der paraneoplastische Pemphigus (PNP), bei denen sich die klinisch-pathologischen Merkmale von LP und autoimmunen bullösen Erkrankungen überschneiden, legen nahe, dass epidermale oder dermal-epidermale Antigene, einschließlich Desmogleine und BP180 (bullöses Pemphigoid Antigen 180), als Autoantigen bei der Entstehung des LP dienen könnten. Wir konnten zeigen, dass bei Patienten mit LP und OLP autoreaktive T-Zellen vom Typ 1/17 gegen BP180 und Dsg3 vorliegen.⁵ Es gibt Berichte, dass bei einer Minderheit der OLP-Patienten eine humorale Aktivität mit Bildung von Antikörpern (AK) gegen Dsg1 und/oder Dsg3 vorliegt.⁶⁻¹⁰ Dies deutet darauf hin, dass auch (hemi-)desmosomale Proteine, die für die (dermo)epidermale Integrität verantwortlich sind, an der Pathogenese der OLP beteiligt sein könnten.⁵

Pemphigus vulgaris (PV) ist eine Autoimmunerkrankung, die durch Blasenbildung und Erosionen der Mundschleimhaut und der Haut gekennzeichnet ist und durch zirkulierende Immunglobuline (Ig) der Klasse G gegen Dsg1 und Dsg3 ausgelöst wird.¹¹ Während die kutanen Läsionen beim PV und LP morphologisch unterschiedlich sind, weisen die oralen Läsionen des erosiven OLP und des PV gemeinsame Merkmale auf. Bei Patienten mit

chronischen Schleimhauterosionen ist es mitunter schwierig, die beiden Erkrankungen klinisch voneinander abzugrenzen. Gelegentlich werden bei OLP-Patienten Serum-Antikörper gegen Dsg-Antigene gefunden, was auf einen noch nicht identifizierten immunologischen Zusammenhang hindeutet. In der klinischen Praxis ist die Differenzierung in der Diagnostik besonders relevant, um Fehlinterpretationen zu vermeiden. Nach unserem Kenntnisstand sind die genaue Prävalenz von Anti-Dsg-Antikörper beim OLP und ihre mögliche biologische Funktion noch unbekannt. In dieser Studie haben wir uns daher der klinischen und biologischen Charakterisierung von zirkulierenden AK in einer großen Kohorte von OLP-Patienten gewidmet.

PATIENTEN UND METHODIK

Aufbau der Studie

Die retrospektive multizentrische Studie wurde in drei tertiären Referenzzentren (Berlin, Marburg, Florenz) für OLP durchgeführt. Insgesamt 151 Patienten mit OLP (35 Männer und 116 Frauen) wurden in diese Querschnittsstudie aufgenommen. Es wurde nach Genehmigung durch die Ethikkommission Einblick in die Krankenakten und/oder Datenbanken in jeder Einrichtung genommen. In diesem Zuge wurde 36 Patienten in Berlin, 105 in Marburg und 10 in Florenz rekrutiert. Patienten mit zirkulierenden AK gegen desmosomale Strukturproteine wurden in Marburg ($n = 2$) und Berlin ($n = 2$) identifiziert. Die Diagnose eines OLP wurde anhand des klinischen Erscheinungsbildes und der histopathologischen Befunde gestellt. Das Vorhandensein von Serum-IgG gegen Dsg1 und Dsg3 wurde mit einem handelsüblichen *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA, Euroimmun, Lübeck, Deutschland) gemäß den Angaben des Herstellers untersucht. Der Schweregrad der Erkrankung wurde mittels des *Oral Disease Severity Score* (ODSS) ermittelt, der sowohl das Ausmaß als auch den Schweregrad der Erkrankung abbildet und für den OLP validiert wurde. Der ODSS-Gesamtscore mit einem Höchstwert von 106 umfasst die Begutachtung 17 oraler anatomischer Areale (*site score*), einen Aktivitätsscore und einen subjektiven Schmerzscore (VAS).^{12–13}

Immunoblot-Analyse

Humanes rekombinantes Dsg3 (gesamte Ektodomäne, Aminosäuren 1–566) und seine extrazellulären Subdomänen (EC1, EC2, EC3, EC4, EC5) wurden wie zuvor beschrieben in einem Baculovirus-Expressionssystem hergestellt.¹⁴ Der Nachweis der Serum-IgG-Reaktivität gegen die Subdomänen von menschlichem Dsg3 erfolgte durch eine Western-Blot-Analyse (WB) nach etablierter Methodik.¹⁴

Zum spezifischen Nachweis der Dsg3-Rekombinanten wurden primäre murine Antikörper (AK) (1:100) und ein monoklonaler Kaninchen-Anti-E-Tag-AK (1:7000; Abcam, Cambridge, UK) verwendet. Als sekundäre AK dienten mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiertes Anti-Maus-IgG oder Anti-Kaninchen-IgG (1:2000; Dako, Glostrup, Dänemark). Die AK-Bindung wurde mit einem kommerziellen HRP-Substrat (Immobilon Western Chemiluminescent HRP substrate; Millipore, Billerica, MA) sichtbar gemacht und mittels eines digitalen Chemilumineszenz-Lesegerät (PEQLAB, Erlangen, Deutschland) detektiert.

Dispase-basierter Keratinozyten-Dissoziationsassay

Der Dispase-basierte Keratinozyten-Dissoziationsassay (DDA) ist die Methode der Wahl, um die pathogene Wirkung von zirkulierenden AK auf die interzelluläre Adhäsion humaner epidermaler Keratinozyten *in vitro* zu untersuchen. Die Methode wurde unter etablierten Bedingungen durchgeführt.¹⁵

HaCaT spontan immortalisierte humane Keratinozyten (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von P. Boukamp, ehemals DFKZ Heidelberg) wurden auf 24-Multiwall-Platten (Greiner AG, Kremsmünster, Österreich; Kat. 10177380) ausgesät und in *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) (PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland, Kat.-Nr. P04-04515) mit chelatiertem fötalen Rinderserum (FBS-Standard [PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland, Kat.-Nr. P30-3306]) (1,6 mM Ca^{2+}) bei 37 °C in 5% CO_2 -Atmosphäre kultiviert. Nach Erreichen der Zellkonfluenz wurde das Medium abgesaugt und der Monolayer mit dem entsprechenden Stimulus, verdünnt in DMEM + chelatiertem FCS über Nacht bei 37 °C und 5% CO_2 inkubiert. Um die Monolayer von der Zellkulturschale abzulösen, wurden die Kammern der Zellkulturplatte mit *Hanks' Balanced Salt Solution* (HBSS mit Ca^{2+} [Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, Kat.-Nr. 14025-050]) gewaschen und für 30 bis 40 Minuten in Dispase-Lösung (2,5 U/ml) (Dispase II Pulver, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, Kat.-Nr. 17105041) inkubiert. Anschließend wurde die Dispase-Lösung durch HBSS ersetzt und die abgelösten Monolayer mit Thiazolylblau-Tetrazoliumbromid (MTT, Invitrogen von Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, Kat.-Nr. M6494) bei 37 °C und 5% CO_2 für 10 Minuten gefärbt. Die Färbelösung wurde danach durch HBSS ersetzt und die Monolayer wurden durch Pipettieren mit einer elektrischen 1-ml-Pipette (Eppendorf Xplorer® elektrische Pipette, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland, Kat.-Nr. 4861000040) in standardisierter Weise mechanisch belastet. Die entstandenen Fragmente wurden mit der Software *ImageJ* quantifiziert und mit der Software *Microsoft Excel* ausgewertet.

TABELLE 1 Demografische Daten einer Kohorte von Patienten, die von oralem Lichen planus betroffen sind.

	Anzahl der Patienten	Geschlecht	Mittleres Alter	Geschlechterverhältnis männlich: weiblich	Patienten mit zirkulierenden Anti-Dsg-Antikörpern (%)
Insgesamt	151	F = 116 M = 35	F = 57,3 M = 55,2	1: 3,3	4/151 (2,6%)
Typ I (Plaque Typ)	95	F = 70 M = 25	F = 54-25 M = 50,72	1: 2,8	0
Typ II (Erosiver Typ)	56	F = 46 M = 10	F = 61,6 M = 68,9	1: 4,6	4/56 (7,1%)

Abk.: F, weiblich; M, männlich; OLP, oraler Lichen planus; dsg, Desmoglein

Statistische Analyse

Alle Daten wurden mit der Software *GraphPad Prism 8.4.3* analysiert und grafisch dargestellt. Die statistischen Analysen wurden mit dem Mann-Whitney-Test und Student's t-Test durchgeführt. Werte von $p < 0,05$ (*) wurden als signifikant angesehen.

ERGEBNISSE

Epidemiologische Merkmale von Patienten mit oralem Lichen planus

Wir haben die Prävalenz von Anti-Dsg-Serum-AK in einer Kohorte von 151 OLP-Patienten aus drei tertiären Referenzzentren untersucht. Insgesamt wiesen 95 der 151 (63%) Patienten einen OLP vom Plaque-Typ und 56 (37%) einen OLP vom erosiven Typ auf. Bemerkenswert war, dass 116 (76,8%) OLP-Patienten weiblich waren, im Vergleich dazu waren 35 (23,2%) Patienten männlich. Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass der OLP bevorzugt bei Frauen auftritt (Verhältnis Männer zu Frauen 1:2,5). Das Durchschnittsalter beim Auftreten der Erkrankung war bei beiden Geschlechtern ähnlich (Männer 55,2 Jahre, Frauen 57,3

Jahre). Vor allem die erosive Form der OLP scheint bei Frauen noch stärker verbreitet zu sein. Von 116 Frauen hatten 39,6% einen erosiven OLP, während die Prävalenz bei Männern 28,6% betrug (Tabelle 1).

Antikörper gegen desmosomale Strukturproteine treten nur bei Patienten mit erosivem oralem Lichen planus auf

Von den 151 untersuchten OLP-Patienten wiesen vier Patienten mit OLP vom erosiven Typ Serum-AK gegen Dsg3 auf (2,6% der gesamten Studienpopulation, 7,1% aller OLP-Patienten vom erosiven Typ) (Abbildung 1, Tabelle 2). Im Gegensatz dazu zeigte keiner der Patienten mit OLP vom Plaque-Typ eine IgG-Serumreaktivität gegen Dsg3. Die histopathologische Untersuchung der läsionalen Mukosa der vier anti-Dsg3 IgG-positiven OLP-Patienten zeigte die charakteristischen Merkmale des LP wie das bandartige T-Zell-Infiltrat in der oberen Dermis, das Vorkommen apoptotischer basaler epidermaler Keratinozyten und die Verdickung des Stratum granulosum, ohne Hinweise auf eine Akantholyse (Abbildung 1). Angesichts des IgG gegen Dsg1 und Dsg3 führten wir eine direkte Immunfluoreszenz (DIF) an entnommener Wangenschleimhaut und eine

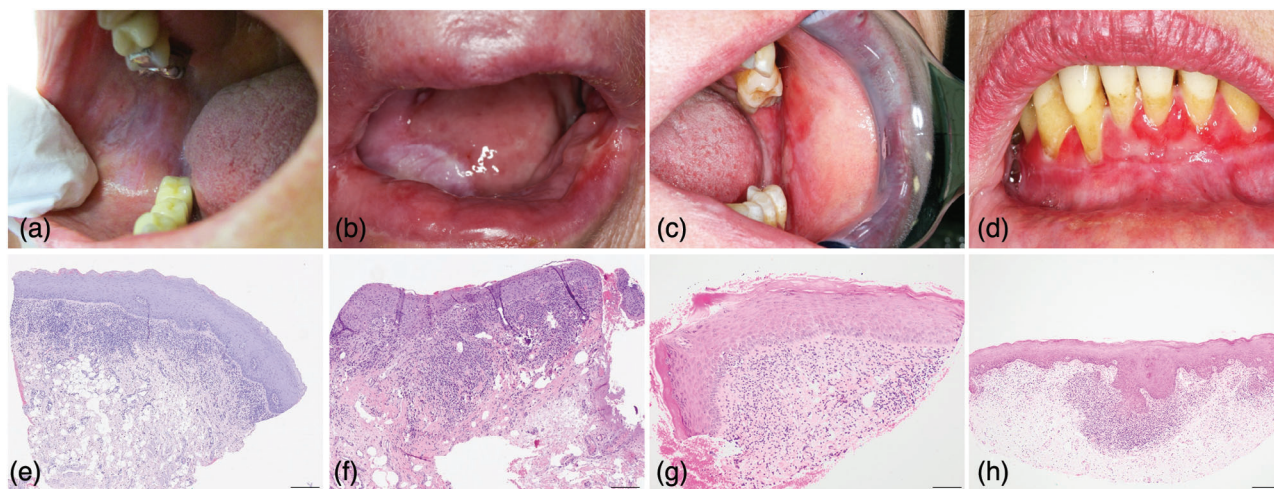


ABBILDUNG 1 (a–d) Klinisches und (e–h) histologisches Erscheinungsbild von vier Patienten mit erosivem oralem Lichen planus mit Antikörpern gegen Desmoglein 1 und/oder 3 (Maßstabsbalken: 250 µm).

TABELLE 2 Merkmale von Patienten mit oralem Lichen planus und zirkulierenden IgG gegen Desmoglein 1 und 3.

Patient Nr.	Geschlecht	Alter	OLP-Typ	Antikörper-Profil	ODSS	Direkte und indirekte Immunfluoreszenz
1	F	73	Erosiv	Dsg1 92 U/ml, Dsg3 135 U/ml Dsc2 und 3 positiv (Western Blot)	39	Negativ
2	F	81	Erosiv	Dsg1 129 U/ml, Dsg3 121 U/ml Dsc2 und 3 positiv (Western Blot)	34	Negativ
3	F	49	Erosiv	Dsg1 32 U/ml, Dsg3 48 U/ml	35	Negativ
4	F	82	Erosiv	Dsg1 26 U/ml, Dsg3 52 U/ml Dsc2 und 3 positiv (Western Blot)	37	Negativ

Abk.: ODDS, Oral Disease Severity Score; F, weiblich; OLP, oraler Lichen planus; Dsg, Desmoglein; Dsc, Desmocollin

indirekte Immunfluoreszenz (IIF) mit den Seren der vier OLP-Patienten durch. Sowohl die DIF als auch die IIF waren bei diesen Patienten negativ (nicht gezeigt).¹⁶ Außerdem bestimmten wir AK gegen weitere desmosomale Antigene. Die Patienten 1, 2 und 4 wiesen IgG gegen Desmocollin (Dsc) 2 und 3 auf, Patient 3 dagegen nicht (Tabelle 2). Die Patienten mit Serum-AK wiesen weder klinische noch labortechnische Anzeichen für solide oder hämatologische Malignome auf. Auch AK gegen Periplakine und Envoplakine lagen nicht vor, sodass wir einen paraneoplastischen Pemphigus ausschließen konnten, der eine klinische Differenzialdiagnose des OLP ist.¹⁷ Alle vier Patienten mit zirkulierenden AK waren kaukasischer Abstammung, hatten anamnestisch und serologisch keinen Hinweis auf eine Hepatitis B oder C und hatten keine orale Infektion mit dem humanen Papillomavirus.

OLP-Seren richten sich gegen verschiedene Subdomänen von Desmoglein 3

In einem nächsten Schritt wollten wir die Ektodomänen von Dsg3 untersuchen, die von den zirkulierenden AK in den OLP-Seren erkannt werden. Bei der WB-Analyse wiesen alle vier Patienten IgG auf, die gegen die EC5 von Dsg3 gerichtet waren, während IgG gegen andere EC weniger häufig nachgewiesen wurden (Abbildung 2a,b). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Anti-Dsg-AK

bei OLP bevorzugt gegen die EC5-Subdomäne gerichtet sind, aber auch gegen andere Subdomänen gerichtet sein können.

Die Höhe der Anti-Desmoglein-Antikörper im Serum korreliert nicht mit der Krankheitsaktivität des oralen Lichen planus

Bei drei Patienten mit erosiver OLP wurden die Serumspiegel von Anti-Dsg-IgG prospektiv über mehrere Monate bestimmt (Abbildung 3a). Hier konnten wir sehen, dass der erste Nachweis von Anti-Dsg-AK erst Monate nach Auftreten erster Symptome des OLP erfolgte. Dies zeigte auch, dass Veränderungen der Anti-Dsg3-IgG-Werte nicht mit der Krankheitsaktivität korrelierten. Die drei Patienten erreichten keine Remission über den Zeitraum der serologischen Überwachung und zeigten auch keine klinische Verbesserung, die mit der Dynamik der AK korreliert werden könnte (Abbildung 3a).

OLP-Patienten mit zirkulierenden Antikörpern gegen Desmoglein weisen eine höhere Krankheitsschwere auf

Um zu verstehen, ob das Auftreten von Anti-Dsg-AK mit schwereren Formen der OLP zusammenhängt, haben wir

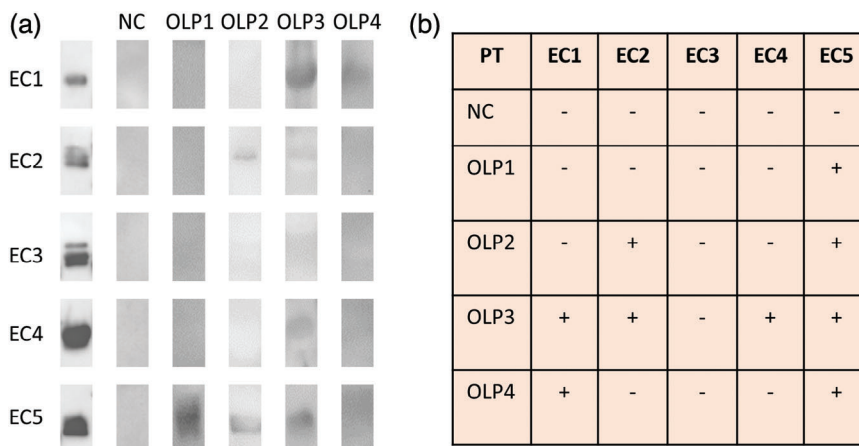


ABBILDUNG 2 Antikörper gegen Desmogleine sind überwiegend gegen die Ektodomäne 5 gerichtet. (a) Der Western Blot mit rekombinanten Desmoglein-Ektodomänen-Rekombinanten zeigt die Prävalenz von Antikörpern gegen Ektodomäne 5, während auch Antikörper gegen die Ektodomänen 1 und 2 vorhanden sein können. (b) Tabelle mit den Ergebnissen des Western Blot bei vier Patienten mit zirkulierenden Antikörpern gegen Desmogleine. Abk.: EC, Ektodomäne, NK, Negativkontrolle; PT, Patient; OLP, oraler Lichen planus.

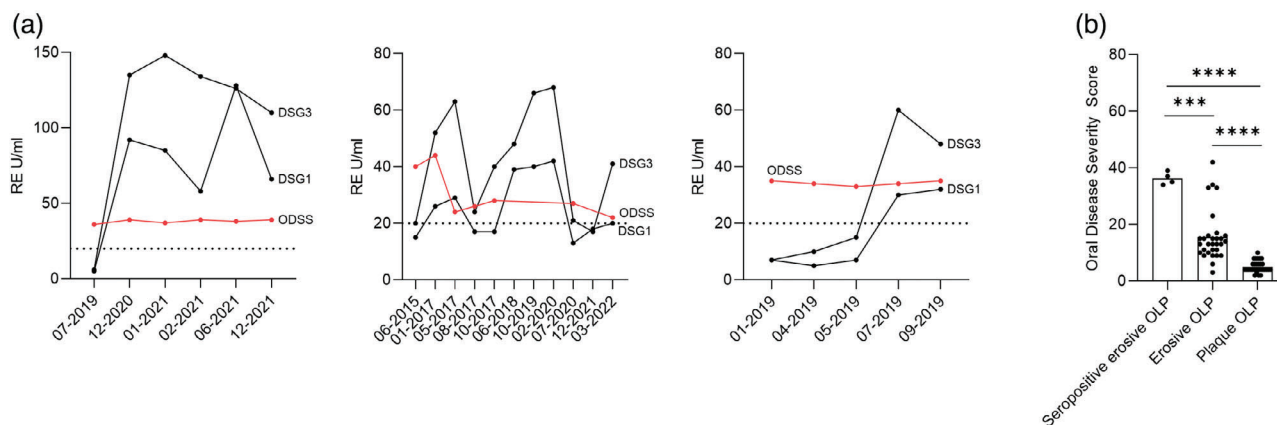


ABBILDUNG 3 Anti-Desmoglein-Antikörper bei oralem Lichen planus stehen im Zusammenhang mit einem schweren Erkrankungsverlauf und Therapieresistenz (a) Die serologische Überwachung auf Anti-Dsg-Antikörper bei zwei Patienten mit oralem Lichen planus zeigt, dass die Aktivierung der humoralen Immunität Monate nach der ersten klinischen Diagnose des oralen Lichen planus einsetzt. Die rote Linie zeigt die Schwankungen der Krankheitsaktivität während der serologischen Überwachung. (b) Vergleich des oralen Krankheitsschweregrads (ODSS) bei 30 Patienten mit Plaque-OLP, 30 Patienten mit erosivem OLP und vier Patienten mit erosivem OLP, die Antikörper gegen Desmoglein 1 und 3 aufweisen (**p < 0,0005, ****p < 0,0001, Mann-Whitney-Test). Abk.: EC, Ektodomäne; OLP, oraler Lichen planus; DSG, Desmoglein; ODSS, Oral Disease Severity Score.

die ODSS von vier OLP-Patienten mit Anti-Dsg-AK mit 25 seronegativen Patienten mit Plaque-OLP und 25 seronegativen Patienten mit einem erosivem OLP verglichen. Der mittlere ODSS der Patienten mit Plaque-OLP war im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen signifikant niedriger, während Patienten mit Anti-Dsg-AK den höchsten ODSS aufwiesen. Das deutet darauf hin, dass die humorale Aktivität beim OLP ein seltenes Ereignis ist, das bei Patienten mit schwerer Erkrankung auftritt (Abbildung 3b).

Anti-Desmoglein-Antikörper beim OLP verursachen keinen Verlust der Zell-Zell-Adhäsion

In einem letzten Schritt wurde das pathogene Potenzial der zirkulierenden Anti-Dsg-AK im Serum der OLP-Patienten und deren Einfluss auf die interzelluläre Adhäsion im DDA getestet.

Im Gegensatz zu dem monoklonalen Anti-Dsg3-AK (AK23) oder dem PV-Serum hatte keines der vier OLP-Seren in vitro einen Effekt auf die interzelluläre Kohäsion. Keratinozyten-Monolayer, die mit PV-Serum oder AK23 inkubiert wurden, zeigten eine Fragmentierung unter mechanischem Stress. Im Gegensatz dazu blieben diejenigen Monolayer intakt, die mit Seren AK-negativer Kontrollpersonen (HC) oder OLP-Seren mit/ohne Anti-Dsg-AK stimuliert wurden (Abbildung 4). Insgesamt deuten diese Ergebnisse stark darauf hin, dass das Auftreten von AK gegen Dsg bei schwerem erosivem OLP ein seltenes Nebenphänomen ist, während diese AK offenbar nicht pathogen sind.

DISKUSSION

In dieser Studie haben wir die Prävalenz von Anti-Dsg3-AK in einer großen Kohorte von Patienten mit OLP genauer analysiert. Unsere Ergebnisse unterstreichen, dass die Aktivierung der humoralen Immunität mit Bildung spezifischer Auto-AK gegen desmosomale Strukturproteine nur bei einer begrenzten Subgruppe von Patienten auftritt. Wir konnten ebenfalls bestätigen, dass der OLP vom erosivem Typ im Allgemeinen seltener auftritt als der OLP vom Plaque-Typ. Die Betroffenen sind vorwiegend weiblich und befinden sich bei Erstdiagnose im vierten oder fünften Lebensjahrzehnt.

Die Aktivierung des humoralen Immunsystems mit der Produktion von AK gegen Dsg ist beim OLP insgesamt selten. In unserer OLP-Kohorte wurden nur bei vier von 151 Patienten solche Auto-AK nachgewiesen. Interessanterweise wiesen alle vier betroffenen Patienten eine erosive Form der OLP auf.¹⁸⁻¹⁹ Diese Beobachtung deckt sich mit früheren Berichten.²⁰ Es ist anzunehmen, dass schwere Entzündungen, die mit dem erosivem Phänotyp einhergehen, die Zerstörung der Keratinozyten fördern und damit eine humorale Reaktion gegen Dsg-Antigene (hier Dsg3) initiieren.²¹ Die anhaltende Apoptose basaler Keratinozyten könnte zum „Sichtbarwerden“ von Selbstepitopen führen, was die Produktion von Auto-AK zur Folge hätte (*epitope spreading*). Diese Hypothese wird durch folgende Punkte gestützt: (1) Die Produktion von AK scheint, den Gesamtverlauf des OLP betrachtet, ein spätes Ereignis zu sein und tritt nicht in der Initialphase der Erkrankung auf (Abbildung 3a); (2) das Vorhandensein von Anti-Dsg3-AK ist mit einer aggressiveren Form des OLP vergesellschaftet (Abbildung 3b). Insgesamt deuten diese Ergebnisse darauf

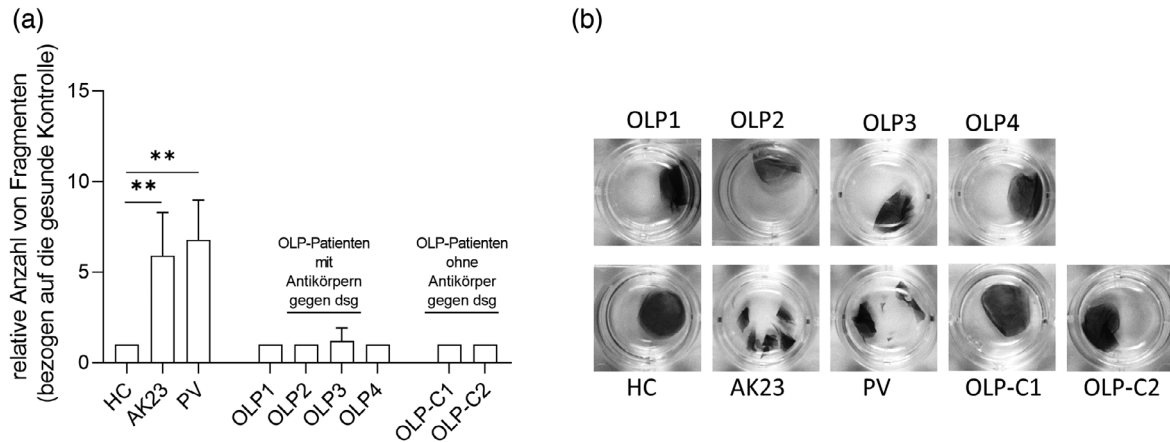


ABBILDUNG 4 OLP-Seren mit Anti-Desmoglein-Antikörper führen in vitro nicht zu einer Akantholyse. (a) Quantifizierung der Monolayer-Fragmente. Seren von Patienten mit oralem Lichen planus mit oder ohne zirkulierende Anti-Dsg-Antikörper zeigen keine Akantholyse. Das Serum eines Patienten mit PV und der spezifische Anti-Dsg3-AK (AK23) dienen als positive Kontrolle. Das Serum einer nicht betroffenen Person diente als Negativkontrolle. Quantifizierung der Monolayer-Fragmentierung in drei unabhängigen Experimenten. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar (** $p < 0,01$, Student's t-Test). (b) Makroskopische Bilder von abgelösten HaCat-Monolayern die eine Fragmentierung zeigen, wenn sie mit Pemphigus-Seren oder AK23 behandelt werden, während die Behandlung mit dem Serum von Patienten mit oralem Lichen planus mit zirkulierenden Antikörpern gegen Desmoglein nicht zur Fragmentierung führt. Abk.: HC, gesunde Kontrolle; PV, Pemphigus vulgaris; OLP, oraler Lichen planus.

hin, dass Anti-Dsg3-AK ein Biomarker für den Schweregrad des erosiven OLP-Typs sein könnten und dass sich die molekularen Mechanismen der beiden klinischen Subtypen unterscheiden könnten.

Das Vorhandensein von Anti-Dsg3-AK wirft die Frage auf, ob diese Patienten möglicherweise von einer sich überlappenden Form von OLP und PV betroffen waren oder ob sich PV aus einer bereits bestehenden OLP entwickelt haben könnte. Diese Annahme konnten wir ausschließen, da sich in der histologischen Begutachtung läsionaler Haut bei diesen vier Patienten typische LP-Merkmale (bandartiges lichenoides T-Zell-Infiltrat, Verdickung des Stratum granulosum und Apoptose basaler Keratinozyten), aber keine suprabasale Akantholyse zeigten (Abbildung 1). Außerdem waren AK von OLP-Patienten, im Gegensatz zu AK von PV-Patienten, nicht in der Lage, in vitro eine Akantholyse auszulösen (Abbildung 4).

Bemerkenswert ist weiterhin, dass wir eine Diskrepanz zwischen dem AK-Titer im ELISA und der Immunfluoreszenz-Untersuchung (IIF/DIF) beobachtet haben: Während alle vier Patienten erhöhte Anti-Dsg-AK-Spiegel aufwiesen, waren die IIF/DIF negativ (nicht gezeigt). Dieser Befund deutet auf die Bildung von AK mit geringer Avidität gegen ihre Zielstruktur hin. Ähnliche Diskrepanzen zwischen serologischen Tests wurden sowohl in Mausmodellen für Pemphigus als auch bei Menschen mit Pemphigus beschrieben. Im Mausmodell führte die Immunisierung mit Pemphigus-Autoantigenen zu einer Aktivierung der humoralen Immunität ohne Auftreten phänotypischer Hautveränderungen. Das deutet darauf hin, dass das korrekte epitop targeting für die Entwicklung des klinischen Phänotyps von PV entscheidend ist.²² Ebenso zeigte sich, dass PV-Patienten in klinischer Remission nichtpathogene AK produzieren, die

in der Immunfluoreszenz-Untersuchung (IIF/ DIF) nicht nachweisbar sind.²³

In vorherigen Arbeiten wurde gezeigt, dass pathogene Anti-Dsg-AK gegen Ca^{2+} -abhängige Epitope gerichtet sind und nur reife Dsg-Proteine erkennen. Im Gegensatz dazu sind gegen Vorläufer-Dsg-gerichtete AK nicht pathogen, unabhängig davon, ob sie spezifisch oder unspezifisch sind. Unsere Immunoblot-Analyse deutet darauf hin, dass AK gegen Dsg3 bei OLP-Patienten hauptsächlich gegen EC5 gerichtet sind. Dieser Befund lässt sich dadurch erklären, dass sich die Autoimmunität beim OLP gegen das Dsg3-Protein in seiner Vorläuferform richtet, die im Zytoplasma enthalten ist, während die B-Zell-Toleranz gegen das reife Protein nahezu erhalten bleibt.^{24–26} In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen wurde in einem früheren Bericht über zwei OLP-Patienten mit zirkulierenden Anti-Dsg-AK gezeigt, dass die AK sowohl gegen reifes als auch gegen Vorläufer-Dsg3 gerichtet sind.²⁷

Interessanterweise wurde bei Patienten mit Lichen sclerosus et atrophicus, einer anderen T-Zell-vermittelten chronisch-inflammatorischen Dermatose, eine Aktivierung der humoralen Immunität nachgewiesen.²⁸

Alle vier Patienten unserer Studie wiesen Autoantikörper gegen sowohl Dsg3 als auch Dsg1 auf. Desmoglein 1 spielt eine wichtige Rolle bei der Bildung des Epithels und seine Produktion ist bei OLP-Patienten gestört.^{29–30} Übereinstimmend damit zeigte eine frühere Studie, dass chronische Entzündungen beim OLP zu einer Veränderung der Dsg1-Expression führen.³⁰ Es ist jedoch auch möglich, dass die AK gegen Dsg1 eine Folge des epitope spreadings sind. Bei beiden Patienten, bei denen prospektiv AK-Titer erhoben wurden, waren die AK gegen Dsg3 konstant höher als die gegen Dsg1 (Abbildung 2c). Außerdem zeigte unsere serologische Analyse, dass diese Patienten auch AK gegen

Dsc aufwiesen. Desmocolline sind desmosomale Komponenten, die eine wichtige Rolle bei der Zell-Zell-Adhäsion und der epidermalen Integrität spielen.³¹ Bei Pemphigus ist der Nachweis von AK gegen Dsc eher selten und tritt meist bei atypischen Pemphigus-Varianten, wie dem paraneoplastischen Pemphigus, und hauptsächlich zusammen mit Anti-Dsg-AK auf.^{17,32}

Desmocollin 2 und 3 werden vor allem in den basalen Epidermisschichten exprimiert, wo sich beim OLP die apoptotischen Prozesse abspielen.³³ Anti-Dsc-Antikörper können direkt pathogen sein. Ihr Auftreten wurde mit einer mit aggressiven Verlaufsformen des Pemphigus in Verbindung gebracht.^{32,34} Aus den Ergebnissen des In-vitro-Akantholyse-Assays können wir schließen, dass auch die Anti-Dsc-AK bei unseren OLP-Patienten nicht pathogen sind und ihr Vorkommen wahrscheinlich eine Folge der chronischen Antigenexposition durch apoptotische basale Keratinozyten ist.

Insgesamt weist auch unsere Studie einige Einschränkungen auf. Zum einen ist die begrenzte Anzahl der eingeschlossenen Patienten zu nennen. Zum anderen wurde nicht analysiert, ob die Patientenseren Ca²⁺-unabhängige Regionen desmosomaler Cadherine erkennen und ob diese AK gegen die unreife Form der Dsg-Proteine gerichtet sind, da diese Techniken in unseren Zentren nicht etabliert sind. Dennoch konnten wir mittels des DDA zeigen, dass die Bildung von Anti-Dsg-AK bei OLP ein nichtpathogenes Epiphänomen zu sein scheint. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass der OLP eine hauptsächlich Th1-gesteuerte Erkrankung ist, während für die Aktivierung humoraler Prozesse eine Th2-Aktivierung notwendig ist. Daher sind Th1-gerichtete Anti-Dsg-T-Zellen beim OLP deutlich häufiger anzutreffen.⁵ Außerdem könnten auch andere Faktoren (zum Beispiel eine genetische Prädisposition) eine humorale Aktivierung verstärken und mitverursachen.

Zusammenfassend zeigen wir in dieser Studie, dass nur eine begrenzte Anzahl von Patienten mit OLP, einer anerkannten T-Zell-gesteuerten Erkrankung, eine gleichzeitige Aktivierung der humoralen Immunantwort aufweisen. Dies unterstreicht, dass in bestimmten Fällen, Hautautoantigene und insbesondere Dsg eine Rolle bei der Pathogenese der OLP spielen könnten. Wir konnten zeigen, dass die Auto-AK beim OLP kein akantholytisches Potenzial aufweisen und sich die Spezifität somit von der beim PV unterscheidet.

Allerdings scheint das Vorhandensein von Anti-Dsg-AK mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf zu korrelieren. In Zukunft werden weitere mechanistische Studien erforderlich sein, um die Rolle der humoralen Immunität bei OLP zu klären.

DANKSAGUNG

Dr. Farzan Solimani ist Teilnehmer des *BIH Charité Clinician Scientist Program*, das von der Charité – Universitätsmedizin Berlin und dem Berliner Institut für Gesundheit der Charité (BIH) finanziert wird. Morna F. Schmidt erhielt För-

derung vom Land Nordrhein-Westfalen (FF-med) und von der RWTH Aachen (Kurzzeitstipendium).

Open access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

FINANZIERUNG

Diese Studie wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Pegasus, FOR 2497) unterstützt.

INTERESSENKONFLIKT

Keiner.

ORCID

Farzan Solimani  <https://orcid.org/0000-0001-6507-5407>

LITERATUR

- Solimani F, Forchhammer S, Schloegl A, et al. Lichen planus – a clinical guide. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2021;19:864-882.
- Didona D, Caposiena Caro RD, Sequeira Santos AM, et al. Therapeutic strategies for oral lichen planus: State of the art and new insights. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:997190.
- Laniosz V, Torgerson RR, Ramos-Rodriguez AJ, et al. Incidence of squamous cell carcinoma in oral lichen planus: A 25-year population-based study. *Int J Dermatol.* 2019;58:296-301.
- Pietschke K, Holstein J, Meier K, et al. The inflammation in cutaneous lichen planus is dominated by IFN-Upsilon and IL-21-A basis for therapeutic JAK1 inhibition. *Exp Dermatol.* 2021;30:262-270.
- Schmidt T, Solimani F, Pollmann R, et al. T(H)1/T(H)17 cell recognition of desmoglein 3 and bullous pemphigoid antigen 180 in patients with lichen planus. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142:669-672 e7.
- Sekiya A, Kodera M, Yamaoka T, et al. A case of lichen planus pemphigoides with autoantibodies to the NC16a and C-terminal domains of BP180 and to desmoglein-1. *Br J Dermatol.* 2014;171:1230-1235.
- Kinjo C, Kaneko T, Korekawa A, et al. Oral lichen planus with antibodies to desmogleins 1 and 3. *J Dermatol.* 2015;42:40-41.
- Didona D, Hertl M. Detection of anti-desmoglein antibodies in oral lichen planus: What do we know so far. *Front Immunol.* 2022;13:1001970.
- Vahide L, Zahra H, Forough G, Nazi S. Autoantibodies to desmogleins 1 and 3 in patients with lichen planus. *Arch Dermatol Res.* 2017;309:579-583.
- Herrero-Gonzalez JE, Parera Amer E, Segura S, et al. Epithelial antigenic specificities of circulating autoantibodies in mucosal lichen planus. *Int J Dermatol.* 2016;55:634-639.
- Didona D, Schmidt MF, Maglie R, Solimani F. Pemphigus and pemphigoids: Clinical presentation, diagnosis and therapy. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2023;21(10):1188-1209.
- Ormond M, McParland H, Thakrar P, et al. Validation of an Oral Disease Severity Score for use in oral lichen planus. *Br J Dermatol.* 2022;186:1045-1047.
- Escudier M, Ahmed N, Shirlaw P, et al. A scoring system for mucosal disease severity with special reference to oral lichen planus. *Br J Dermatol.* 2007;157:765-770.
- Muller R, Svoboda V, Wenzel E, et al. IgG reactivity against non-conformational NH-terminal epitopes of the desmoglein 3 ectodomain relates to clinical activity and phenotype of pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol.* 2006;15:606-614.
- Schmidt MF, Feoktistova M, Panayotova-Dimitrova D, et al. Pitfalls in the application of dispase-based keratinocyte dissociation assay for in vitro analysis of pemphigus vulgaris. *Vaccines (Basel).* 2022;10(2):208.
- Solimani F, Meier K, Zimmer CL, Hashimoto T. Immune serological diagnosis of pemphigus. *Ital J Dermatol Venerol.* 2021;156:151-160.

17. Solimani F, Maglie R, Pollmann R, et al. Thymoma-associated paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome-from pemphigus to lichenoid dermatitis. *Front Immunol.* 2019;10:1413.
18. Gholizadeh N, Khoini Poorfar H, TaghaviZenouz A, et al. Comparison of serum autoantibodies to desmogleins I, III in patients with oral lichen planus and healthy controls. *Iran J Pathol.* 2015;10:136-140.
19. Rambhia KD, Kharkar V, Pradhan V, et al. A study of prevalence of autoantibodies in patients with lichen planus from Mumbai, India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2018;84:667-671.
20. Lukac J, Brozovic S, Vucicevic-Boras V, et al. Serum autoantibodies to desmogleins 1 and 3 in patients with oral lichen planus. *Croat Med J.* 2006;47:53-58.
21. Chan LS, Vanderlugt CJ, Hashimoto T, et al. Epitope spreading: lessons from autoimmune skin diseases. *J Invest Dermatol.* 1998;110:103-109.
22. Boch K, Drager S, Zillikens D, et al. Immunization with desmoglein 3 induces non-pathogenic autoantibodies in mice. *PLoS One.* 2021;16:e0259586.
23. Nakahara T, Takagi A, Yamagami J, et al. High anti-desmoglein 3 antibody ELISA index and negative indirect immunofluorescence result in a patient with pemphigus vulgaris in remission: evaluation of the antibody profile by newly developed methods. *JAMA Dermatol.* 2014;150:1327-1330.
24. Yamagami J, Kacir S, Ishii K, et al. Antibodies to the desmoglein 1 precursor proprotein but not to the mature cell surface protein cloned from individuals without pemphigus. *J Immunol.* 2009;183:5615-5621.
25. Kamiya K, Aoyama Y, Shirafuji Y, et al. Detection of antibodies against the non-calcium-dependent epitopes of desmoglein 3 in pemphigus vulgaris and their pathogenic significance. *Br J Dermatol.* 2012;167:252-261.
26. Sharma PM, Choi EJ, Kuroda K, et al. Pathogenic anti-desmoglein MAbs show variable ELISA activity because of preferential binding of mature versus proprotein isoforms of desmoglein 3. *J Invest Dermatol.* 2009;129:2309-2312.
27. Muramatsu K, Nishie W, Natsuga K, et al. Two cases of erosive oral lichen planus with autoantibodies to desmoglein 3. *J Dermatol.* 2016;43:1350-1353.
28. Oyama N, Chan I, Neill SM, et al. Autoantibodies to extracellular matrix protein 1 in lichen sclerosis. *Lancet.* 2003;362:118-123.
29. Getsios S, Simpson CL, Kojima S, et al. Desmoglein 1-dependent suppression of EGFR signaling promotes epidermal differentiation and morphogenesis. *J Cell Biol.* 2009;185:1243-1258.
30. Shimada K, Ochiai T, Shen FC, Hasegawa H. Phenotypic alteration of basal cells in oral lichen planus; switching keratin 19 and desmoglein 1 expression. *J Oral Sci.* 2018;60:507-513.
31. Spindler V, Heupel WM, Efthymiadis A, et al. Desmocollin 3-mediated binding is crucial for keratinocyte cohesion and is impaired in pemphigus. *J Biol Chem.* 2009;284:30556-30564.
32. Amber KT, Valdebran M, Grando SA. Non-desmoglein antibodies in patients with pemphigus vulgaris. *Front Immunol.* 2018;9:1190.
33. Ishii N. Significance of anti-desmocollin autoantibodies in pemphigus. *J Dermatol.* 2023;50:132-139.
34. Hudemann C, Maglie R, Llamazares-Prada M, et al. Human desmocollin 3-specific IgG antibodies are pathogenic in a humanized HLA class II transgenic mouse model of pemphigus. *J Invest Dermatol.* 2022;142:915-923 e3.

How to cite this article: Didona D, Schmidt MF, Meier K, et al. Pathogenetische Bedeutung von Antikörpern gegen Desmoglein 3 bei Patienten mit oralem Lichen planus. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* 2024;22:1392–1400. https://doi.org/10.1111/ddg.15510_g