

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Ruzicka

**Evaluation histologischer und immunhistochemischer
Kriterien zur Differenzierung von palmoplantarer
Psoriasis und unterschiedlichen Formen
des Hand- und Fußekzems**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von

Andreas Zedelius

aus
Karlsruhe

2013

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Braun-Falco

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Christoph Walz

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.01.2013

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	9
Abkürzungsverzeichnis	10
Vorwort	12
1 Einleitung	13
1.1 Psoriasis palmoplantaris	14
1.1.1 Definition	14
1.1.2 Geschichte der Psoriasis	14
1.1.3 Epidemiologie	15
1.1.4 Ätiologie	15
1.1.5 Klinik	16
1.1.6 Genetik	16
1.1.7 Lebensqualität	17
1.1.8 Kosten	18
1.2 Hand- und Fußekzem	18
1.2.1 Definition	18
1.2.2 Klinische Parameter bei Ekzemen	19
1.3 Dyshidrosiformes Hand- und Fußekzem	19
1.3.1 Epidemiologie	19
1.3.2 Klinik	20
1.3.3 Risikofaktoren	21
1.4 Kontaktekzem	21
1.5 Chronisches (kumulativ-toxisches) Ekzem	22

1.6	Palmoplantare Mykosen.....	22
1.6.1	Tinea manum.....	22
1.6.2	Tinea pedis	22
1.7	Differentialdiagnostische Möglichkeiten bei palmoplantaren Ekzemen	23
1.8	Histologie.....	24
1.8.1	Histologie der Psoriasis palmoplantaris.....	24
1.8.2	Histologie von Hand- und Fußekzem	25
1.9	JunB	26
1.9.1	Allgemeines	26
1.9.2	Signaltransduktion	27
1.9.3	Embryogenese.....	28
1.9.4	Tumorassoziation.....	28
1.9.5	JunB bei Psoriasis	29
2	Fragestellung.....	31
3	Material und Methoden	32
3.1	Patientenkollektiv.....	32
3.1.1	Routinepräparate	32
3.1.2	Klinische Kriterien.....	33
3.1.3	Histologische Kriterien für Psoriasis palmoplantaris oder Ekzem	34
3.2	Immunhistologie	35
3.2.1	Prinzip der Immunhistologie.....	35
3.2.2	Immunhistochemische Färbungen mit JunB.....	37
3.3	Verbrauchsmaterialien	39
3.4	Histologische Auswertung	40
3.5	Statistische Auswertung.....	40
4	Ergebnisse	41
4.1	Ergebnisse der Fallsuche.....	41
4.2	Charakterisierung der Patienten.....	41

4.2.1	Alter und Geschlecht.....	41
4.2.2	Eigenanamnese für Psoriasis.....	41
4.2.3	Familienanamnese für Psoriasis.....	41
4.2.4	Eigenanamnese für Atopie.....	42
4.2.5	Familienanamnese für Atopie.....	42
4.2.6	Epicutantest.....	42
4.2.7	Pricktest.....	42
4.2.8	Rauchen.....	42
4.2.9	Gesamt Serum IgE.....	43
4.3	Histologische Untersuchung.....	43
4.3.1	Erste histologische Untersuchung.....	43
4.3.2	Evaluation der Kriterien der kongruenten Fälle.....	44
4.3.3	Anwendung der signifikanten Kriterien auf die sicheren Fälle.....	48
4.3.4	Anwendung der signifikanten Kriterien auf die diskrepanten Fälle.....	49
4.4	Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit JunB.....	51
4.4.1	JunB bei Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzemen.....	51
4.4.2	JunB bei anderen dermatologischen Erkrankungen.....	55
5	Diskussion.....	59
	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	59
5.1	Evaluation histologischer und klinischer Kriterien zur Differenzierung von Psoriasis und unterschiedlichen Ekzemytypen in palmoplantarer Lokalisation. ...	60
5.1.1	Evaluation der Psoriasis-Kriterien.....	61
5.1.2	Evaluation der Ekzem-Kriterien.....	62
5.1.3	Anwendung der statistisch signifikanten Kriterien auf die Psoriasis und Ekzempatienten zur Etablierung eines Punktesystem zur effizienten Diagnostik.....	63
5.1.4	Anwendung der Punktesysteme auf die diskrepanten Fälle.....	64
5.2	Hilft die JunB-Expression zur Unterscheidung von Psoriasis palmoplantaris und palmoplantaren Ekzemformen?.....	65

Zusammenfassung	72
Literaturverzeichnis	74
Danksagung	81
Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klinisches Bild der Psoriasis palmoplantaris.....	16
Abbildung 2: Klinisches Bild eines Fußekzem.....	20
Abbildung 3: Histologisches Bild der Psoriasis palmoplantaris (HE, 10x).....	25
Abbildung 4: Histologisches Bild eines akuten dyshidrosiformen Handekzem (HE 10x).....	26
Abbildung 5: Prinzip der Immunhistologie (Nach „Handbuch Immunchemische Färbemethoden“ 3. Auflage, Copyright 2003 DakoCytomation Corp., Carpinteria, CA, USA).....	36
Abbildung 6: JunB Expression bei palmoplantarer Psoriasis (5x).....	51
Abbildung 7: JunB Expression bei palmoplantarer Psoriasis (Ausschnitt aus Abbildung 6, 20x).....	52
Abbildung 8: JunB Expression bei dyshidrosiformen Handekzem (10x).....	52
Abbildung 9: JunB beim dyshidrosiformen Handekzem (Ausschnitt aus Abbildung 8, 20x).....	53
Abbildung 10: JunB Expression beim Plattenepithelkarzinom (5x).....	56
Abbildung 11: JunB Expression beim Plattenepithelkarzinom (20x, Ausschnitt aus Abbildung 10).....	56
Abbildung 12: JunB Expression beim malignen Melanom (5x).....	57
Abbildung 13: JunB Expression beim malignen Melanom (20x, Ausschnitt aus Abbildung 12).....	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Histologische Kriterien für Psoriasis oder Ekzem	34
Tabelle 2: Entparaffinierungsprotokoll	37
Tabelle 3: MSAPAL-Protokoll	38
Tabelle 4: Kombinierte Kriterien, die für Psoriasis sprechen	44
Tabelle 5: Kombinierte Kriterien, die für ein Ekzem sprechen	45
Tabelle 6: Untersuchung der „diskrepanten Fälle“ mit 17 Kriterien	50
Tabelle 7: Untersuchung der „diskrepanten Fälle“ mit 10 Kriterien	50
Tabelle 8: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen mit JunB	54
Tabelle 9: Zusammenfassung der JunB Ergebnisse	54
Tabelle 10: JunB Expression bei anderen Dermatosen.....	55

Abkürzungsverzeichnis

TNF	Tumor Nekrose Faktor
MHC	Major Histocompatibility Complex
PSORS1	Psoriasis Susceptibility 1
Mm	Millimeter
PAS	Periodic Acid Schiff reaction
PCR	Polymerase chainreaction
IgE	Immunglobulin E
AP1	Activator Protein 1
UV	Ultraviolett
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
Maf	Musculoaponeurotic Fibrosarcoma
ATF	Activating Transcription Factor
JDP	Jun Dimerization Partners
TPA	12-O-Tetradecanoyphorbol-13-Acetat
TRE	TPA-Responsive Element
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
MAPK	Mitogen Activated Proteinkinase
Wnt	Wingless Mutant
TGF- β	Transforming Growth Factor β
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
RTK	Receptor Tyrosinkinase
MMP	Matrix Metalloproteinase
UPA	Urokinase Plasminogen Activator
mRNA	messenger Ribonucleinacid

HE	Haematoxylin-Eosin
LSAB	Labelled Streptavidin-Biotin
µm	Mikrometer
°C	Grad Celsius
AP	Alkalische Phosphatase
MBF	Prof. Dr. med. Markus Braun-Falco
RT-PCR	Realtime Polymerase Chain Reaction
CD8	Cluster of Differentiation 8
Pso	Psoriasis Palmoplantaris
Dys	Dyshidrosiformes Hand- und Fußekzem
NK1.1	Natürliche Killerzellen 1.1

Vorwort

Alle in dieser Arbeit durchgeführten Experimente wurden mit in Paraffin eingebetteten Hautproben aus der Universitätsklinik Freiburg durchgeführt, welche zur Routinediagnostik nach schriftlicher Einwilligung der Patienten entnommen wurden. Die Durchführung dieser Arbeit wurde mit der Zustimmung der Ethik-Kommission der Universitätsklinik Freiburg durchgeführt.

1 Einleitung

Entzündliche Hauterkrankungen an Händen und Füßen bilden eine heterogene Gruppe diverser Dermatosen. Sie unterscheiden sich nicht nur stark in ihrer Pathogenese sondern auch in der sich daraus ergebenden Therapie und Prognose. Daher ist es umso wichtiger eine möglichst genaue diagnostische Zuordnung zu einer bestimmten Erkrankung zu erreichen. Häufig ist jedoch das klinische Bild der verschiedenen palmoplantaren Dermatosen sehr ähnlich, so dass sich daraus nicht immer eine eindeutige Diagnose ergibt. Insbesondere gilt dies für entzündliche Dermatosen an Händen und Füßen wie zum Beispiel beim allergischen Kontaktekzem, dyshidrosiformen Ekzem sowie der palmoplantaren Psoriasis. Das hängt mit den besonderen Funktionen sowie der exponierten Lage von Handflächen und Fußsohlen zusammen. Aufgrund der Beteiligung an wichtigen Aufgaben wie Stehen, Greifen und Tasten, zeigen Palmae und Plantae im Gegensatz zur übrigen Haut einige morphologische Besonderheiten. So findet sich zum Beispiel eine 20- bis 40fache Verdickung des Stratum corneum im Vergleich zur übrigen Haut. Bei mikroskopischer Betrachtung zeigt sich eine besonders stark ausgeprägte kammartige Verzahnung von Epidermis und Dermis. Weitere Merkmale sind das Fehlen von apokrinen Drüsen und Talgdrüsen, sowie der Reichtum an ekkrinen Schweißdrüsen und druck- und tastspezifischen Rezeptoren. Die morphologische Variationsbreite ist wegen der lokalen Terrainfaktoren bei Erkrankungen an Palmae und Plantae in Abhängigkeit der auslösenden Ursache nur gering. Große differentialdiagnostische Schwierigkeiten sind die Folge, da das klinische Bild unterschiedlichster Erkrankungen morphologisch sehr ähnlich sein kann (Friedrich, Lenz et al. 1973).

Eine gute Korrelation von klinischem und histologischem Erscheinungsbild ist notwendig, um die optimale Diagnose stellen zu können, ganz nach dem Motto des berühmten Hamburger Dermatologen und Wegbereiter der histologischen Diagnostik in der Dermatologie Paul Gerson Unna (1850-1929), welcher sagte: „Die Dermatologie sollte nicht aufhören, das klinische Bild mit einem histologisch geübten Auge zu betrachten und das histologische Bild mit dem Blick des Klinikers zu analysieren.“ (Metze 2007)

Nach wie vor gilt diese Aussage und insbesondere bei palmoplantaren Dermatosen. Daher hat sich die Histologie als Goldstandard der Diagnostik bei unklaren Fällen seit über 100 Jahren durchgesetzt. In dieser Arbeit wurden deshalb die klinischen und histologischen Kriterien zur Unterscheidung von palmoplantarer Psoriasis sowie Hand- und

Fußekzemen evaluiert und es wurde versucht anhand der Expression von JunB ein weiteres Unterscheidungsmerkmal zu etablieren.

1.1 Psoriasis palmoplantaris

1.1.1 Definition

Eine Sonderform der Psoriasis ist die Psoriasis palmoplantaris. Sie existiert als akut auftretende pustulierende Dermatose, welche von Königsbeck 1917 und Barber 1936 an der hiesigen Universität erstmals beschrieben wurde und deren Namen in die Nomenklatur als Psoriasis pustulosa palmoplantaris vom Typ Barber-Königsbeck aufgenommen wurden. Gleichsam existiert eine chronische Form mit hyperkeratotischer Hornauflagerung, welche einem chronischen Hand- und Fußekzem täuschend ähnlich sein kann (Braun-Falco 2005).

1.1.2 Geschichte der Psoriasis

Die Psoriasis ist eine der häufigsten entzündlichen Erkrankungen der Haut in Deutschland und bedeutet für erkrankte Menschen eine meist jahrzehntelange Leidensgeschichte mit großem persönlichen Aufwand, teilweise erheblicher Stigmatisierung und sozialer Ausgrenzung (Nevitt GJ und Hutchinson PE 1996). Der Name Psoriasis leitet sich von dem griechischen Wort *psora*, jucken, ab. Es gibt Hinweise dafür, dass bereits im Alten Testament mit dem hebräischen Ausdruck *tzaraath* nicht nur die Lepra sondern auch andere Hautkrankheiten wie die Psoriasis beschrieben wurden. Auch Hippokrates machte in seinen Schriften um 400 vor Christus keinen Unterschied in der Beschreibung der Lepra und der Psoriasis, was dazu führte, dass viele an Psoriasis erkrankte wie Leprakranke als Aussätzige behandelt und von der Gesellschaft verstoßen wurden. Claudius Galen benutzte den Ausdruck *Psoriasis vulgaris* als Überbegriff für jegliche Art von juckenden Hauterkrankungen. Erst 1841 wurde durch die beiden in Wien tätigen Ärzte Ferdinand von Hebra und Moriz Kaposi die Psoriasis als eigenständige Entität definiert und klar von der Lepra abgegrenzt (Meenan 1955).

1.1.3 Epidemiologie

Im Gegensatz zur Psoriasis vulgaris gibt es leider nur sehr wenige Studien zur Häufigkeit der Psoriasis palmoplantaris. Die Daten in der Literatur schwanken zwischen 2,8% palmoplantaren Befalles bei 252 Psoriasis Patienten in einer Studie von 1963 (Lomholt 1963) bis zu 4.9 % in einer Studie von 1974 mit 5600 Psoriasis Patienten (Farber and Nall 1974). Zur Inzidenz der Psoriasis vulgaris liegen jedoch weit mehr Studien vor. Sie beträgt in den westlichen Industrienationen 1,5 bis 2%. In Deutschland sind somit etwa zwischen 1,23 und 1,64 Millionen Menschen an einer Psoriasis erkrankt. Daraus ergibt sich eine Häufigkeit der Psoriasis palmoplantaris zwischen 0,042% und 0.098% beziehungsweise zwischen 34440 und 80360 Patienten in der Gesamtbevölkerung Deutschlands. Bei über 90% der Patienten kommt es zu einem chronischen Verlauf (Nevitt GJ und Hutchinson PE 1996). Psoriasis tritt gleichhäufig bei Männern und Frauen sowie unabhängig vom Alter auf. Bezüglich der Prävalenz der Psoriasis zeigen sich jedoch große regionale Unterschiede. So liegt sie zum Beispiel bei den Samoanern bei 0% , wo hingegen sie bei den Arktischen Kasach`ye bei 12% liegt (Farber EM 1998). Auch ethnische Einflüsse spielen eine Rolle, wie man an der Prävalenz bei dunkelhäutigen US-Amerikanern (0.45% bis 0.7 %) (Kenny 1971) im Vergleich zu nicht dunkelhäutigen US-Amerikanern (1.4% bis 4.6%) sehen kann (Christophers 2001).

1.1.4 Ätiologie

Die genauen Ursachen für das Entstehen einer Psoriasis palmoplantaris sind bis heute noch nicht vollständig geklärt. Eine genetische Prädisposition für die Psoriasis konnte jedoch in vielen Studien erfolgreich nachgewiesen werden (Siehe 1.1.6 Genetik). Daher geht man zum jetzigen Zeitpunkt davon aus, dass es sich bei der Psoriasis um eine genetisch geprägte, chronisch-rezidivierende und entzündlich-proliferative überwiegend T-Zell-vermittelte Erkrankung handelt (Braun-Falco 2005). Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass inflammatorische Zytokine wie Tumor Nekrose Faktor (TNF), Interleukin 12, Interleukin 23 und andere eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Psoriasis spielen. Man sollte daher die Psoriasis nicht als eine Erkrankung sehen, welche durch einen einzigen Zelltypen oder ein einziges inflammatorisches Zytokin ausgelöst wird, sondern als eine Erkrankung, die durch das Zusammenspiel von Leukozyten, Hautzellen und

einer Vielzahl von Zytokinen, Chemokinen und chemischen Mediatoren, die in der Haut durch das zelluläre Immunsystem reguliert werden, ausgelöst wird.

1.1.5 **Klinik**

Bei der Psoriasis palmoplantaris kommt es in der akut entzündlichen Phase zum Auftreten von scharf begrenzten erythemasquamösen Plaques, in denen sich immer wieder sterile flach erhabene Pusteln zeigen, welche seenartig in einander verschmelzen können (Fritsch 2003). Mit abnehmendem Eruptionsdruck bzw. in mehr chronischen Fällen treten weniger Pusteln auf und es zeigt sich vielmehr ein dem hyperkeratotischen Ekzem ähnliches Bild aus dicken festhaftenden grob lamellären Schuppen. (Krueger and Bowcock 2005).



Abbildung 1: Klinisches Bild der Psoriasis palmoplantaris

1.1.6 **Genetik**

Bisher gibt es keine Studie, die sich mit einer genetischen Prädisposition für die palmoplantare Psoriasis beschäftigt. Es wurde jedoch das Vorliegen einer genetischen Prä-

disposition für andere Formen der Psoriasis in vielen Studien erfolgreich belegt (Schon and Boehncke 2005). Allerdings ist der genaue Vererbungshergang bisher ungeklärt. Sind beide Elternteile an Psoriasis erkrankt, so sind bis zu 50 % der Kinder davon betroffen. Die Vererbbarkeit sinkt jedoch auf 16 % wenn nur ein Elternteil betroffen ist (Watson, Cann et al. 1972). Untersuchungen an Zwillingen haben eine Konkordanzrate von ungefähr 70% bei monozygoten und ungefähr 20% bei dizygoten Zwillingen ergeben (Farber, Nall et al. 1974; Brandrup, Holm et al. 1982). Weiterhin wurde bei einer Untersuchung von 1262 erkrankten Kindern im Alter zwischen 1 Monat und 15 Jahren festgestellt, dass zu 71% eine positive Familienanamnese bestand (Morris, Rogers et al. 2001). Mehrere Forschungsarbeiten haben eine genetische Veranlagung für Psoriasis in der Major Histocompatibility Complex (MHC) Region auf dem Chromosom 6 in verschiedenen Populationen nachweisen können. Dieser Gen-Locus wurde psoriasis susceptibility 1 (PSORS1) (auf Deutsch: Psoriasis Anfälligkeit 1) genannt und scheint an bis zu 50 % der Psoriasis Fälle beteiligt zu sein (Trembath, Clough et al. 1997; Burden, Javed et al. 1998). Es wurden noch weitere Gen-Loci, PSO2-PSO7 gefunden, darunter PSORS6 auf dem Chromosom 19 (Lee, Ruschendorf et al. 2000). Die Psoriasis-Anfälligkeits-Region PSORS6 ist in dieser Arbeit von entscheidender Bedeutung, da sich dort das Gen für JunB befindet.

1.1.7 Lebensqualität

Petty et al. konnten im August 2003 in einer Studie zeigen, dass Patienten mit palmoplantarer Psoriasis mehr körperliche Einschränkungen und Beschwerden haben als Patienten mit anderen Formen der Psoriasis ($P < 0.01$). Sie untersuchten 317 Patienten mit Psoriasis, von denen 124 unter palmoplantarer Beteiligung litten. Verglichen wurden funktionelle Behinderung, psychiatrische Symptome, körperliche und soziale Beschwerden, selbst eingeschätzter Psoriasis Schweregrad und gesundheitsbezogene Lebensqualität (Petty, Balkrishnan et al. 2003). Deshalb ist es von besonderer Wichtigkeit, diese spezielle Form der Psoriasis genauer zu untersuchen.

1.1.8 **Kosten**

Die finanziellen Ressourcen im Gesundheitswesen sind begrenzt, daher sind auch in der Therapie der Psoriasis pharmako-ökonomische Faktoren von Bedeutung. Die Häufigkeit von Psoriasis beträgt in Deutschland ungefähr 1,5 bis 2% der Bevölkerung, bei einer Einwohnerzahl von 82 Millionen sind das zwischen 1,23 und 1,64 Millionen Patienten (Farber EM 1998). In einer großen Studie von 2006 in Deutschland wurde bei 192 Patienten mit mittlerer bis schwerer Psoriasis vulgaris die Cost-of-illness (Krankheitskosten) untersucht. Die jährlichen Kosten pro Patient pro Jahr lagen bei 2866 € beziehungsweise 4985 €, wenn zusätzlich eine systemische Therapie durchgeführt wurde (Berger, Ehlken et al. 2005). Für Deutschland wurden in anderen Krankheitskostenstudien gezeigt, dass die jährlichen mittleren Gesamtkosten der Psoriasis vulgaris pro Patient bei leichten Schweregraden in der Größenordnung von 500 € und 2.000 € und bei schweren Verläufen zwischen 4.000 € und 10.000 € betragen. Allein die mittleren jährlichen Therapiekosten liegen bei schweren Formen um 4.400 €, die indirekten Kosten (u.a. Produktivitätsausfälle, Frühberentungen) bei 1.600 € (Berechnungen Prof. Augustin, Hamburg; AWMF-Leitlinien 11/2008) Aus diesen Zahlen ergibt sich die wirtschaftliche Relevanz dieser Krankheit und somit auch das wissenschaftliche Interesse an der Entstehung, Diagnostik und vor allem der Therapie dieser Erkrankung. Insbesondere die zunehmende Verschreibung von so genannten Biologicals wird in der Zukunft zu einer Erhöhung der Krankheitskosten führen.

1.2 **Hand- und Fußekzem**

1.2.1 **Definition**

Als Hand- und Fußekzem wird eine Gruppe von ursächlich verschiedenen Erkrankungen beschrieben welche durch eine polymorphe Entzündungsreaktion der Haut an Handflächen und Fußsohlen gekennzeichnet ist. Diese Entzündungsreaktion beinhaltet ein Nach- und Nebeneinander von Erythem, Bläschen, Exsudation, Papeln, Schuppen, Exsikkation, Pruritus und Schmerzen. Hand- und Fußekzeme sind häufige Erkrankungen, die alle Altersstufen und Berufsgruppen betreffen. Ohne eine passende Pflege und Therapie können sie sich zu chronischen und schmerzlichen Erkrankungen entwickeln,

die den Alltag der betroffenen Patienten stark einschränken können. Sowohl endogene als auch exogene Faktoren tragen zur Entwicklung eines Hand- oder Fußekzems bei (Sehgal, Srivastava et al. 2010). Aufgrund der multifaktoriellen Genese sowie der häufigen Mischformen ist eine eindeutige Einteilung oft schwierig. Im klinischen Alltag hat sich jedoch die folgende Einteilung bewährt: atopisches Ekzem, Kontaktekzem (akutes allergisches Kontaktekzem), chronisches (kumulativ-toxisches) Ekzem sowie dyshidrosiformes Ekzem.

1.2.2 Klinische Parameter bei Ekzemen

Neben der Beurteilung des klinischen Bildes gehört zur vollständigen Befunderhebung bei Verdacht auf ein Hand- und/oder Fußekzem selbstverständlich auch eine gründliche Anamnese bezüglich anderer Hauterkrankungen, Allergien, Atopie in der Eigen- und Familienanamnese sowie eine ehrliche Raucheranamnese. Allgemein anerkannte weitere klinische Parameter, die für ein Ekzem sprechen, sind ein positiver Epikutan-Test, ein positiver Prick-Test sowie ein erhöhtes gesamt IgE im Serum.

1.3 Dyshidrosiformes Hand- und Fußekzem

1.3.1 Epidemiologie

In einer Studie mit 107.206 schwedischen Probanden aus der Gesamtbevölkerung fanden sich 51 Personen (0.05%) die an Dyshidrosis litten. In dieser Population wurde bei 3% aller Hand-Dermatosen Dyshidrosis festgestellt und bei 97% eine andere Form der Hand-Dermatose (Agrup 1969). Magina und Kollegen fanden bei einer retrospektiven Untersuchung von 714 Patienten mit Hand-Dermatosen über einen Zeitraum von 6 Jahren in Porto in Portugal, dass 20% dieser Patienten an einem dyshidrotischen Ekzem erkrankt waren (Magina, Barros et al. 2003). Von 104 italienischen Dyshidrosis Patienten waren 56% männlich im Alter zwischen 4 und 76 Jahren und das Durchschnittsalter war 38 Jahre (Lodi, Betti et al. 1992). Es zeigte sich bei keiner der 3 Arbeiten eine Beziehung zwischen Dyshidrosis und dem Verhältnis männlich zu weiblich, sowie Altersgipfel und Altersverteilung.

1.3.2 Klinik

Das klinische Bild der Dyshidrosis wurde bereits 1953 von Shelley sehr genau beschrieben. Dyshidrosis ist charakterisiert durch einen selbstlimitierenden, rezidivierenden und oftmals symmetrischen Bläschenausschlag an Handflächen und Fußsohlen, häufig mit Beginn an den lateralen Phalangen. Dieser Ausschlag ist nirgends sonst am Körper zu finden. Die Bläschen sind 1-2mm groß und sitzen fest auf anfangs nicht-erythematöser Haut. Vor und während der Bläschenbildung besteht meist ein relativ starker Juckreiz. Bei maximalem Eruptionsdruck kann ein Pompholyx aus großflächigen prallen und wasserklaren Blasen entstehen. Nach 2 bis 3 Wochen lösen sich die Bläschen durch Involution und Desquamation auf. Oft ist der Verlauf chronisch und kann sich zu einer Erkrankung entwickeln, die die Patienten stark in ihrem Berufsalltag und Privatleben einschränkt (Lofgren and Warshaw 2006).



Abbildung 2: Klinisches Bild eines Fußekzems

1.3.3 Risikofaktoren

Häufig wird Atopie als Risikofaktor für Dyshidrosis erachtet. Lodi und Kollegen berichteten, dass bei ihrer Fall-Kontrollstudie von 104 Patienten mit Dyshidrosis 50% Atopiker waren, jedoch nur 11,5% der Kontrollgruppe (Lodi, Betti et al. 1992). Andere Studien zeigten keinen Zusammenhang zwischen Atopie und Dyshidrosis. De Boer und Kollegen fanden bei der Untersuchung von 21 Arbeitern mit Dyshidrosis nur einen (5%) Atopiker (de Boer, Bruynzeel et al. 1988). Auch Edman fand bei 141 Personen mit Dyshidrosis keine Korrelation zwischen Atopie und Dyshidrosis (Edman 1988). Es gibt also Hinweise darauf, dass Atopie ein Risikofaktor für Dyshidrosis ist. Bei der Dyshidrosis lamellosa sicca, einer Sonderform der Dyshidrosis, Synonym auch Exfoliatio manuum areata genannt, liegt jedoch häufig eine atopische Diathese vor (Braun-Falco 2005). Weitere potentielle Risikofaktoren für Dyshidrosis sind Rauchen, orale Kontrazeptiva und Azetylsalizylsäure. Edman untersuchte an 425 Patienten die Beziehung von palmaren Ekzemen (von denen 92% dyshidrotische Ekzeme waren) und verschiedenen klinischen Faktoren. Er fand statistisch signifikante Zusammenhänge bei männlichen Rauchern ($p = 0,029$), der Einnahme von Azetylsalizylsäure ($p = 0,006$) und der Einnahme von oralen Kontrazeptiva ($p = 0,028$) (Edman 1988).

1.4 Kontaktekzem

Das Kontaktekzem ist eine morphologisch durch die Ekzemreaktion – ein Nach- und Nebeneinander von Erythem, Bläschen, Exsudation, Papeln, Schuppen, Exsikkation – charakterisierte entzündliche Intoleranzreaktion der Haut. Dieses Reaktionsmuster wird induziert durch (meist) äußerlich einwirkende, nichtinfektiöse, immunologisch, chemisch oder physikalisch wirkende Noxen. Die klinischen Merkmale der Ekzemreaktion sind abhängig vom Akuitätsstadium, aber auch der einwirkenden Noxe und der Art des Kontaktes, dem Pathomechanismus, der Lokalisation und anderen Faktoren. Wegweisend für die Diagnosestellung sind die Anamnese und letztlich die Detektion des auslösenden Allergens (Frosch PJ 1996).

1.5 Chronisches (kumulativ-toxisches) Ekzem

Beim chronisch kumulativ-toxischen Handekzem finden sich diffuse oder umschriebene, eher unscharf begrenzte, schuppene, entzündlich gerötete Plaques. Häufig kommt es im Verlauf zu einer zunehmenden entzündlichen Hautverdickung (Lichenifikation), sowie auch zu Rhagaden. Das histologische Bild ist nicht spezifisch, manchmal findet man epidermal deutliche spongiotische Veränderungen, eher aber eine akanthotische Epidermisverdickung mit Hyperkeratose und nur diskreter spongiotischer Auflockerung. Im Korium besteht eine geringe Papillomatose mit vorwiegend perivaskulären, lymphohistiozytären Infiltraten (Braun-Falco 2005).

1.6 Palmoplantare Mykosen

1.6.1 Tinea manum

Als Tinea manus wird die überwiegend von *Trichophyton rubrum* hervorgerufene oberflächliche akute oder oft chronische Mykose bezeichnet. Infektionsreservoir ist meist die gleichzeitig bestehende Tinea pedis. Man unterscheidet zwischen einer dyshidrosiformen Tinea manus und einer hyperkeratotisch rhagadiformen Tinea manus. Als Differentialdiagnosen kommen unter anderem allergisches Kontaktekzem, atopisches Ekzem, Psoriasis palmoplantaris, Keratoma palmare et plantare und Dyshidrosis lamellosa sicca in Frage. Die genannten Krankheiten treten gewöhnlich beiderseits auf und sind rein morphologisch, ohne Pilzuntersuchung, von der Tinea manus nur schwer oder gar nicht zu unterscheiden. Daher kommt dem mikroskopischen oder kulturellen Pilznachweis eine entscheidende Rolle zu. Der Nachweis von Hyphen, Pseudomyzelien, Hefen oder Sporen gelingt im Nativpräparat oder durch Spezialfärbungen wie PAS- (Periodic Acid Schiff) und Grocott-Färbungen oder über Kultur- und PCR-Verfahren. Dadurch lässt sich eine Mykose sicher nachweisen beziehungsweise ausschließen (Abeck D 2000).

1.6.2 Tinea pedis

Die Tinea pedis ist eine von Dermatophyten verursachte Mykose der Fußsohlen und/oder der Zehenzwischenräume. Sie ist weltweit verbreitet und wird von *Trichophy-*

ton rubrum, gefolgt von *T. interdigitale* (früher *T. mentagrophytes* var. *Interdigitale*) und seltener von anderen Dermatophyten verursacht (Abeck D 2000). Klinisch werden drei Erscheinungsformen unterschieden: Intertriginöser Typ, squamös-hyperkeratotischer Typ sowie dyshidrosiformer Typ. Insbesondere beim dyshidrosiformen Typ ist an dyshidrosiforme Ekzeme und an Psoriasis pustulosa palmaris et plantaris zu denken (Braun-Falco 2005).

1.7 Differentialdiagnostische Möglichkeiten bei palmoplantaren Ekzemen

Die größten Schwierigkeiten bestehen in der Unterscheidung von palmoplantarer Psoriasis, Tinea manum et pedum, dyshidrosiformen Hand und Fußekzem und Kontaktekzemen. Wie bereits erwähnt, lässt sich jedoch die Diagnose einer Tinea meist durch den Nachweis von Hyphen, Pseudomyzelien, Hefen oder Sporen im Nativpräparat oder durch Spezialfärbungen wie PAS- (Periodic Acid Schiff) oder Grocott-Färbungen sicher stellen.

Für die Diagnose einer Psoriasis palmoplantaris sprechen immer wiederkehrende, oberflächliche (subkorneale) scharf begrenzte sterile Pusteln und relativ festhaftende globamellöse Schuppung (Fritsch 2003).

Beim dyshidrotischen Hand- und Fußekzem findet sich ein oftmals symmetrischer Bläschenausschlag an Handflächen, Fußsohlen und/oder seitlich an den Fingern, der nirgends sonst am Körper zu finden ist. Die Bläschen sind circa 1-2mm groß und sitzen fest auf nicht-erythematösen Basen.

Beim allergischen Kontaktekzem treten sehr ähnlich wie beim dyshidrotischen Ekzem kleine Bläschen, Exsudation und Schuppen auf entzündlicher geröteter Haut auf, welche im Verlauf zunehmend schuppende, lichenifizierte und hyperkeratotische Plaques ausbilden.

Beim chronisch kumulativ-toxischen Handekzem finden sich diffuse oder umschriebene, zumeist unscharf begrenzte, schuppende, entzündlich gerötete Herde. Häufig kommt es im Verlauf zu einer zunehmenden entzündlichen Hautverdickung (Lichenifikation), auch mit Rhagaden (Frosch PJ 1996).

Wegweisend für eine diagnostische Zuordnung innerhalb der unterschiedlichen Ekzemtypen ist eine positive Atopieanamnese, positive Auslöser im Epikutantest sowie der allgemeine Einfluss von Berufs- und Alltagseinflüssen auf Hände und Füße.

Seltene Differenzialdiagnosen wie Skabiesbefall oder Mykosis fungoides lassen sich meist durch die am restlichen Integument auftretenden Hauteffloreszenzen ausschließen.

Als Goldstandard bei klinisch nicht klar zuzuordnenden Fällen gilt weltweit die histologische Untersuchung einer Gewebeprobe.

1.8 Histologie

1.8.1 Histologie der Psoriasis palmoplantaris

Histologisch finden sich epidermale Hyperplasie, Hyperkeratosen, Parakeratosen sowie spongiotische Veränderungen (Pasic, Lipozencic et al. 1989). Weiterhin zeigen sich intraepidermale spongiforme Pusteln welche mit neutrophilen Granulozyten gefüllt und von randständiger Spongiose umgeben sind. Im Stratum papillare sieht man eine Gefäßweitstellung, mononukleäre Infiltrate und einzelne neutrophile Granulozyten (Braun-Falco 2005).

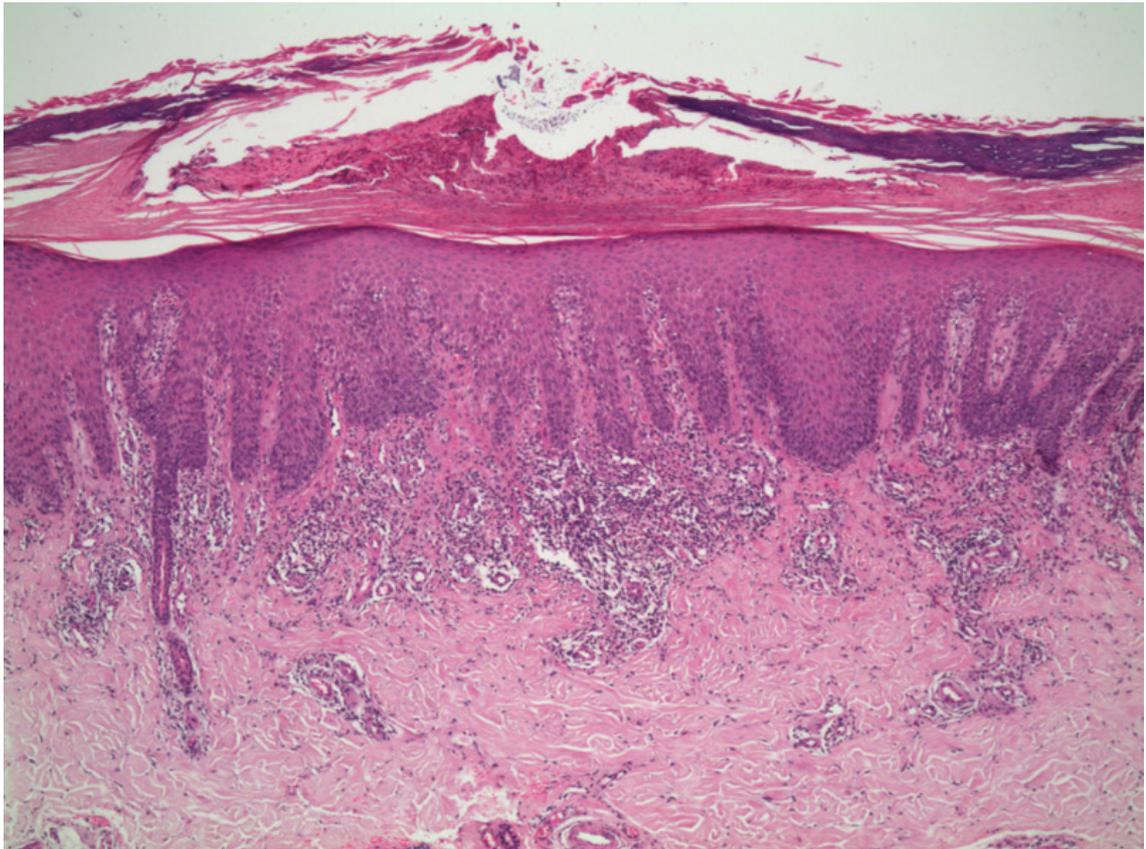


Abbildung 3: Histologisches Bild der Psoriasis palmoplantaris (HE, Vergrößerung 10x)

1.8.2 Histologie von Hand- und Fußekzem

Histologisch zeigt sich für alle Ekzemytypen ähnlich das Bild einer spongiotischen zunehmend hyperkeratotischen oberflächlich perivaskulären Dermatitis mit einzelnen eosinophilen Granulozyten. Bei Atopie, Dyshidrose -allergisch oder chronisch-kumulativ kann der zugrundeliegende Pathomechanismus histologisch nicht unterschieden werden. Bei akutem Geschehen steht die Spongiose im Vordergrund, welche bis zur Blasenbildung reichen kann. Bei mehr chronischen und älteren Prozessen steht eine hyperkeratotische Epidermishyperplasie im Vordergrund (Ackerman 1997).

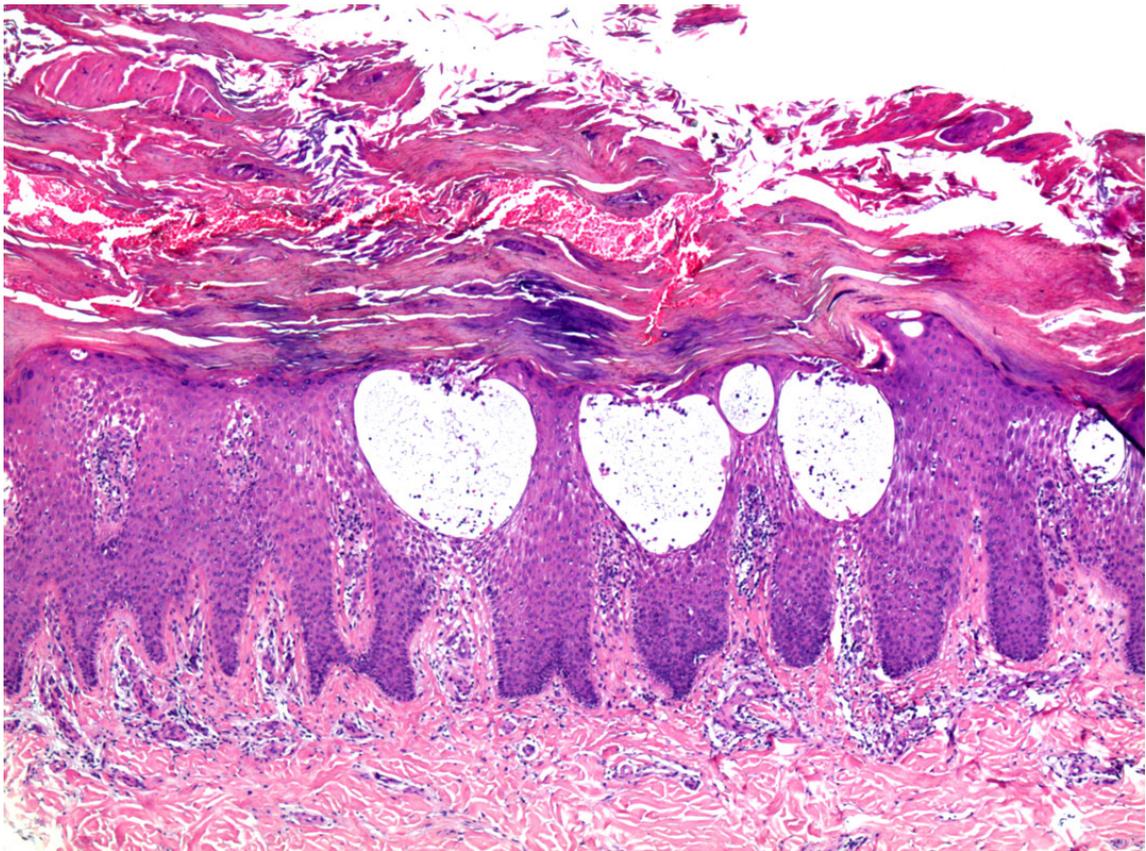


Abbildung 4: Histologisches Bild eines akuten dyshidrosiformen Handekzems (HE, Vergrößerung 10x)

1.9 JunB

1.9.1 Allgemeines

Menschliches JunB gehört zum Activator Protein-1 (AP-1) Transkriptions Faktor Komplex, der zwischen extrazellulären Signalen und der Expression spezifischer Gene vermittelt und dadurch komplexe biologische Prozesse reguliert.

Der AP-1 Komplex wurde bereits im Jahr 1987 identifiziert (Angel, Imagawa et al. 1987; Lee, Mitchell et al. 1987). Retrovirale homologe Teile davon wurden sogar schon 1983 erstmals erwähnt (van Straaten, Muller et al. 1983). Jedoch sind bis heute noch sehr viele Fragen über die biologische Relevanz und die physiologischen und pathologischen Funktionen von AP-1 und seinen Komponenten offen.

Innerhalb einer Zelle wird die AP-1 Aktivität durch eine große Bandbreite an physiologischen und pathologischen Stimuli reguliert, zum Beispiel Wachstumsfaktoren, Neuro-

transmitter, Polypeptid Hormone, bakterielle und virale Infektionen, UV-Strahlen, ionisierende Strahlen, chemische und physikalische Stress-Signale und onkogene Stimuli (Hess, Angel et al. 2004). AP-1 beschreibt eine Gruppe von strukturell und funktionell ähnlichen Mitgliedern der Jun-Proteinfamilie [Jun (ursprünglich c-Jun), JunB und JunD], der Fos Proteinfamilie [Fos (ursprünglich cFos), FosB, Fra1 und Fra2] und der musculoaponeurotic fibrosarcoma (Maf) Proteinfamilie (Eferl and Wagner 2003). Dazu kommen noch einige Proteine der activating transcription factor (ATFa, ATF-2 und ATF-3) sowie jun dimerization partners (JDP-1 und JDP-2) Unterfamilie, welche strukturelle Ähnlichkeiten aufweisen. Diese bilden mit anderen AP-1 Proteinen (überwiegend Jun) Heterodimere, um an die AP-1 recognition site, auch TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) TPA-responsive element (TRE) genannt, binden zu können (Jochum, Passegue et al. 2001). TRE hat die Consensus Sequence 5'-TGAG/CTCA-3' (Angel and Karin 1991). Die Jun-Proteine können Homodimere oder zusammen mit Fos Proteinen Heterodimere formen. Die Dimerisierung erfolgt durch „leucine-zipper“ (= Leuzin- Reißverschluss), die daraufhin eine alpha-helikale Struktur formen, in welcher jede siebte Aminosäure Leuzin ist. Der Kontakt mit der DNA findet über die „basic region“ statt, die sich direkt oberhalb des „leucine-zipper“ befindet und durch eine Vielzahl positiv geladener Reste charakterisiert ist. Beide Regionen sind bei allen Jun- und Fos-Proteinen stark konserviert. Sie unterscheiden sich jedoch deutlich in ihrer Fähigkeit, AP-1 abhängige Gene zu aktivieren. (Eferl and Wagner 2003).

1.9.2 **Signaltransduktion**

Veränderungen in der AP-1 Aktivität als Antwort auf extrazelluläre Signale werden sowohl auf der Ebene der Transkription der Jun und Fos Gene als auch durch posttranslationale Modifikation des zuvor bestehenden AP-1 reguliert. Die Transkription der einzelnen Untereinheiten von AP-1 unterscheidet sich, je nachdem welches extrazelluläre Signal auftritt: Zum Beispiel wird in vielen Zellen die Expression von c-Fos und JunB durch cAMP induziert, wohingegen die Expression von c-Jun unterdrückt wird. Auf der anderen Seite werden alle drei Gene durch TPA (= 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate) induziert, während die Expression von JunD weder durch cAMP noch durch TPA verändert wird.

Ein dritter Mechanismus, der die AP-1 Aktivität reguliert, ist die direkte Interaktion mit anderen zellulären Proteinen. Der aktivierte Glukokortikoidrezeptor und die Retinol-

säurerezeptoren inhibieren sowohl das basale AP-1 Niveau als auch die TPA induzierte AP-1 Aktivität durch Inhibition der Bindung von AP-1 an das TRE (= TPA Responsive Element).

Die Regulation von AP-1 durch die verschiedenen Mechanismen spielt höchstwahrscheinlich eine zentrale Rolle in der Kontrolle von komplexen biologischen Prozessen wie Zellproliferation und Differenzierung. Jedoch anstatt ein spezialisierter Vollstrecker einer einzigartigen Proliferations- oder Differenzierungs-Reaktion auf exogene Stimuli zu sein, scheint der AP-1 Komplex eine allgemeine Rolle in der Signaltransduktion von der Membran zum Zellkern zu spielen (Angel and Karin 1991).

Der AP-1 Signaltransduktionsweg ist hinter anderen Signaltransduktionswegen wie Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), Wingless Mutant (Wnt), und Transforming Growth Factor β (TGF- β) geschaltet, die in der Evolution stark konserviert wurden. Diese sind Schlüsselwege, um extrazelluläre Stimuli in kurzzeitige und langzeitige Veränderungen der Genexpression zu übersetzen. Verschiedene Stimuli aktivieren MAPKs, die zum Beispiel durch Phosphorylierung von bestimmten Substraten die AP-1 Aktivität erhöhen. Wachstumsfaktoren wie Epidermal Growth Factor (EGF) und Zytokine aktivieren zum Beispiel den Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) oder Rezeptor Tyrosin Kinase (RTK) (Zenz, Eferl et al. 2005; Zenz and Wagner 2006).

1.9.3 Embryogenese

JunB ist - zumindest für Mäuse - lebenswichtig. Schorpp-Kistner et al. konnten 1999 zeigen, dass Knockout-Mäuse ohne JunB zwischen E8.5 und E10.0 sterben. Grund dafür war eine fehlerhafte Vaskularisation der Plazenta. In Trophoblasten führte das Fehlen von JunB zu einer Dysregulierung der Genexpression von Proliferin, Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) und Urokinase Plasminogen Activator (uPA), die unter anderem eine fehlerhafte Neovaskularisation der Dezidua zur Folge hatte (Schorpp-Kistner, Wang et al. 1999).

1.9.4 Tumorassoziation

Da JunB als Regulator von Zellwachstum, Differenzierung und auch neoplastischen Veränderungen angesehen wird, untersuchten Wang et al. die Expression von JunB

beim kolorektalen Adenokarzinom (n=24) mittels Western Immunoblotting und immunhistochemischen Färbungen. Hierbei zeigte sich eine deutliche Überexpression von JunB in betroffenem Tumorgewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe (Wang, Birkenbach et al. 2000). Auch beim Primären Kutanen T-Zell Lymphom fand sich eine verstärkte Expression von JunB (Mao, Orchard et al. 2003).

1.9.5 JunB bei Psoriasis

Das Gen für JunB liegt auf dem Psoriasis Susceptibility Region PSORS6 locus (19p13) auf dem Chromosom 19. Das macht diese Region für die Psoriasis Forschung interessant. Im September 2005 erschien in der Wissenschaftszeitschrift „Nature“ ein Artikel von Zenz et al. mit dem Titel: „Psoriasis-like skin disease and arthritis caused by inducible epidermal deletion of Jun proteins“. Dort wurde gezeigt, dass bei Mäusen ein spezifischer epidermaler und dermaler Knockout von JunB und cJun zu ähnlichen Hauterscheinungen wie bei Psoriasis-Patienten führt. Sie stellten die Hypothese auf, dass die JunB Expression in von Psoriasis befallener Haut erniedrigt sein sollte im Vergleich zu gesunder Haut der gleichen Patienten (Zenz, Eferl et al. 2005).

Allerdings zeigten zwei Arbeiten von 2004 mit menschlichen Hautproben gegenteilige Ergebnisse. So konnten Johansen et al. 2004 eine erhöhte Expression von JunB-mRNA und JunB-Protein in Gewebeproben von Psoriasis-Patienten nachweisen. Ebenfalls stellten sie auch eine Reduktion der JunB Protein-Expression als Folge einer effektiven Psoriasis-Behandlung mit Calcipotriol fest (Johansen, Kragballe et al. 2004). Die zweite Studie war eine Gene-Profilung-Studie, die bei japanischen Psoriasis Patienten eine erhöhte JunB mRNA- Expression zeigte (Kulski, Kenworthy et al. 2005).

Aufgrund dieser Widersprüche machten Haider et al. 2006 eine weitere Untersuchung über die Expression von JunB in befallener Haut von 26 Patienten mit Psoriasis. Das Ergebnis war sowohl eine signifikante Erhöhung der JunB Protein- Expression, als auch eine signifikante Erhöhung der JunB mRNA- Expression. Weiterhin beobachteten sie eine Reduktion der JunB mRNA- Expression als Reaktion auf eine Behandlung mit Cyclosporin. Sie vermuten, dass eine erhöhte Expression von JunB in Keratinozyten Teil einer allgemeinen Entzündungsreaktion ist (Haider, Duculan et al. 2006).

Basierende auf diesen Erkenntnissen wurde in der vorliegenden Arbeit die JunB Expression in von Psoriasis palmoplantaris befallener Haut untersucht. Erstmals wurde

von uns auch die JunB Expression von Hautproben von Patienten mit einem Hand- und Fußekzem untersucht, was bisher noch nie erforscht wurde. Weiterhin wurde die JunB Expression stichprobenartig für andere Hauterkrankungen wie Melanom, Basaliom, Spinaliom, chronisches Ekzem sowie bei gesunder Haut in jeweils palmoplantarer Lokalisation untersucht

2 Fragestellung

Die Diagnose von palmoplantaren Dermatosen kann aus vielerlei Gründen sehr schwierig sein. Insbesondere in der Unterscheidung zwischen Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzemen wird zu einer diagnostischen Herausforderung, wenn krankheitstypische Veränderungen fehlen wie Pusteln bei der Psoriasis palmoplantaris oder Bläschen beim dyshidrosiformen Hand- und Fußekzem. Zusätzlich zu klinischen Merkmalen gilt die Histologie als Goldstandard in der Diagnostik. Jedoch zeigen sich auch histologisch große Ähnlichkeiten bei beiden Erkrankungen.

Daher wurde von uns eine Kriterienliste aus den allgemein üblichen histologischen und klinischen Charakteristika zur Unterscheidung zwischen Psoriasis palmoplantaris und verschiedenen Formen des Hand- und Fußekzems zusammengestellt und die einzelnen Kriterien auf ihre Differenzierungskapazität hin getestet. Um einen weiteren möglichen Differenzierungsmarker zu etablieren wurde die JunB-Expression immunhistochemisch untersucht, da in der Literatur eine Überexpression bei Psoriasis-Patienten postuliert wurde.

Für die vorliegende Arbeit ergaben sich daraus unter anderem die folgenden Fragenstellungen:

- Welche Kriterien sind hilfreich in der Unterscheidung zwischen palmoplantarer Psoriasis und anderen Formen von Hand- und Fußekzemen?
- Welche histologischen Merkmale zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied bei beiden Erkrankungen?
- Gibt es klinische beziehungsweise anamnestische Parameter die bei der Stellung der Diagnose helfen können?
- Finden sich bei der Psoriasis palmoplantaris die gleichen histologischen Auffälligkeiten wie bei der Psoriasis vulgaris?
- Ist JunB ein geeigneter immunhistochemischer Marker zur Differenzierung bei unklaren histologischen und klinischen Fällen?
- Wie stark ist die Protein-Expression von JunB bei anderen dermatologischen Erkrankung in palmoplantarer Lokalisation wie beim Basaliom, Spinaliom oder Melanom?

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Die Falllisten des dermatohistopathologischen Labors der Universitätshautklinik Freiburg wurden von Januar 2005 bis April 2006 nach Hautentzündungen in palmoplantarer Lokalisation durchsucht. Ausgewählt wurden die Diagnosen Psoriasis palmoplantaris, Psoriasis pustulosa palmoplantaris, Psoriasis pustulosa Typ Barber-Königsbeck, Pustulosis palmoplantaris, dyshidrosiformes Hand- und Fußekzem, Kontaktekzem, spongiforme Dermatitis, palmoplantare Dermatitis und palmoplantares Ekzem. Ausgeschlossen wurden Patienten mit den Diagnosen: Morbus Bowen, Lichen ruber planus, REM-Syndrom, Lichenoide benigne Keratose, Erythema exsudativum multiforme, Chronisch artifizielle Reizung, Erythema nodosum, Tinea manum, Tinea pedum und Lupus erythematoses tumidus. Die Gewebeproben wurden ausschließlich an Handflächen oder Fußsohlen der Patienten entnommen. Proben anderer Lokalisationen wie Handrücken oder Fußrücken wurden nicht berücksichtigt. Zur Untersuchung der JunB-Expression in gesunder Haut der Handflächen und Fußsohlen, also als Negativkontrolle, wurden Hautproben der Routinediagnostik, welche zum Beispiel am Rand einer Excision eines Naevus zu finden waren, benutzt. Zur Untersuchung wurde dementsprechend nur der Teil des Präparates beurteilt, welcher sicher einen normalen Hautbefund darstellte.

3.1.1 Routinepräparate

Die Routinepräparate der ausgewählten Fälle wurden herausgesucht und auf ihre Beurteilungsqualität hin durchgesehen. Hierbei handelte es sich um Hämatoxylin-Eosin-gefärbte Objektträgerpräparate (HE) sowie zusätzlich Periodic Acid Schiff (PAS) gefärbte, in der Routinediagnostik hergestellte Objektträgerpräparate. Von qualitativ schlecht gefärbten Präparaten wurden im Rahmen der täglichen Routinefärbung neue angefertigt. Die Gewebeproben waren nach schriftlicher Einwilligung der Patienten unter Lokalanästhesie aus der betroffenen Region entnommen worden. Pro Patient wurden 3-4 HE-Färbungen und 1-2 PAS-Färbungen von 3-4 µm dicken Schnitten der Gewebeproben auf Objektträgern erstellt.

3.1.2 **Klinische Kriterien**

Zusätzlich wurden aus den elektronischen sowie nichtelektronischen Patientenakten Informationen zur Krankheitsgeschichte extrahiert, darunter die klinisch gestellte Diagnose, Psoriasis zusätzlich an anderer Lokalisation, Familienanamnese für Psoriasis, Familienanamnese für Atopie, Eigenanamnese für Atopie und Allergien, gesamt IgE-Spiegel im Serum, Epikutan- und Prick-Test, Pilzkultur, Raucheranamnese sowie andere Hauterkrankungen in der Krankengeschichte.

3.1.3. **Histologische Kriterien**

Die histologischen Kriterien für die Diagnosen Psoriasis palmoplantaris sowie Hand- und Fußekzem wurden aus folgenden aktuellen, international anerkannten Lehrbüchern der Dermatohistopathologie zusammengestellt:

1. A. Bernard Ackerman. Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases. 2nd ed., Williams & Wilkins, Philadelphia 1997
2. David Weedon. SKIN Pathology. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York 2002
3. David E. Elder, Rosalie Elenitsas, Bennett L. Johnson Jr. George F. Murphy (Eds.) Lever's Histopathology of the Skin. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005

Die histologischen Kriterien sind wie folgt tabellarisch ausgeführt.

3.1.3 Histologische Kriterien für Psoriasis palmoplantaris oder Ekzem

Tabelle 1: Histologische Kriterien für Psoriasis oder Ekzem

Im Stratum corneum	Psoriasis	Ekzem
Orthokeratose	-	+
Parakeratose	+	-
Ortho- über Parakeratose	+	-
Ortho- und Parakeratose abgestuft im Intervall	+	-
Serumeinlagerung im Stratum corneum	-	+
Neutrophile Granulozyten im Stratum corneum	+	-
Serumkruste (Neutros+Serum)	-	+
Neutrophile Granulozyten oberhalb Parakeratose	+	-
Lymphozyten im Stratum corneum	+	+
Epidermale Veränderungen	Psoriasis	Ekzem
Psoriasiforme Akanthose	+	-
Ungleichmäßige Akanthose	-	+
Suprapapilläres Ausdünnen	+	-
Hypogranulose	+	-
Hypergranulose	-	+
Erhöhte basale Mitoserate	+	+
Erhöhte suprabasale Mitoserate	+	-
Spongiose allgemein	-	+
Spongiose suprapapillär	+	-
Spongiose im Bereich der Reteleisten	-	+
Exozytose von Lymphozyten	-	+
Eosinophile in der Epidermis	-	+
Neutrophile in der Epidermis	+	-

Intraepidermale Pusteln (Oberflächlich oder tief gelegen)	+	-
Neutrophile am Rand der Pustel (spongiforme Pustel)	+	-
Entzündungsinfiltrat	Psoriasis	Ekzem
Perivaskulär gelegen	+	+
Interstitiell gelegen	+	+
Tief gelegen	+	+
Lymphozyten im Entzündungsinfiltrat	+	+
Neutrophile im Entzündungsinfiltrat	+	-
Eosinophile im Entzündungsinfiltrat	-	+
Plasmazellen im Entzündungsinfiltrat	+	+
Dermale Veränderungen	Psoriasis	Ekzem
Dilatierte Kapillaren in der Dermis (Papillargefäße)	+	-
Spiralig veränderte Papillargefäße	+	-
Verbreiterung des Stratum papillare	-	+
Grobe Bündel von Kollagenfasern in vertikalen Streifen (Vertical Streaks) im Stratum papillare	-	+
Pilznachweis in der PAS-Färbung	-	-

3.2 Immunhistologie

3.2.1 Prinzip der Immunhistologie

Um spezifische Proteine in Zellen nachzuweisen, verwendet man monoklonale Antikörper, die speziell gegen ein Epitop auf dem entsprechenden Protein gerichtet sind. Um die Bindung des monoklonalen Antikörpers an das Protein nachzuweisen, verwenden immunhistochemische Färbungen eine Enzym-Substratreaktion, bei der zum Bei-

spiel farbloses Chromogen in ein rot gefärbtes Produkt umgewandelt wird. Die älteste Methode ist die direkte Methode, bei der der monoklonale Antikörper an ein Enzym gekoppelt ist, welches die Enzym-Substratreaktion katalysiert, das heißt, für einen Farbumschlag sorgt. Das Problem bei dieser Methode ist allerdings, dass pro Antikörper nur ein Enzym arbeiten kann und so die Farbreaktion nur gering ausfällt. Deshalb verwendet man heutzutage überwiegend indirekte Methoden, zum Beispiel die Labelled Streptavidin-Biotin (LSAB) Methode. Hierbei macht man sich die hohe Affinität von Streptavidin zu Biotin zu nutze. Zuerst bindet der Primärantikörper an das gewünschte Protein. Im zweiten Schritt bindet das biotinylierte Immunglobulin (anti-Rabbit oder anti-Mouse) an den Primärantikörper. Als nächstes bindet der Streptavidin-Enzym Komplex an das Biotin. Streptavidin hat vier Bindungsstellen für Biotin, das heißt es können mehrere Streptavidin-Enzym Komplexe an das Biotin binden. Als Enzym wird meistens Alkalische Phosphatase benutzt, welche die Farbreaktion von Chromogen katalysiert (Boenisch 2001). Der Vorteil der LSAB Methode liegt darin, dass pro Primärantikörper jeweils viele Enzyme für eine Farbreaktion sorgen und so die Farbintensität deutlich verstärken (Hsu, Raine et al. 1981).

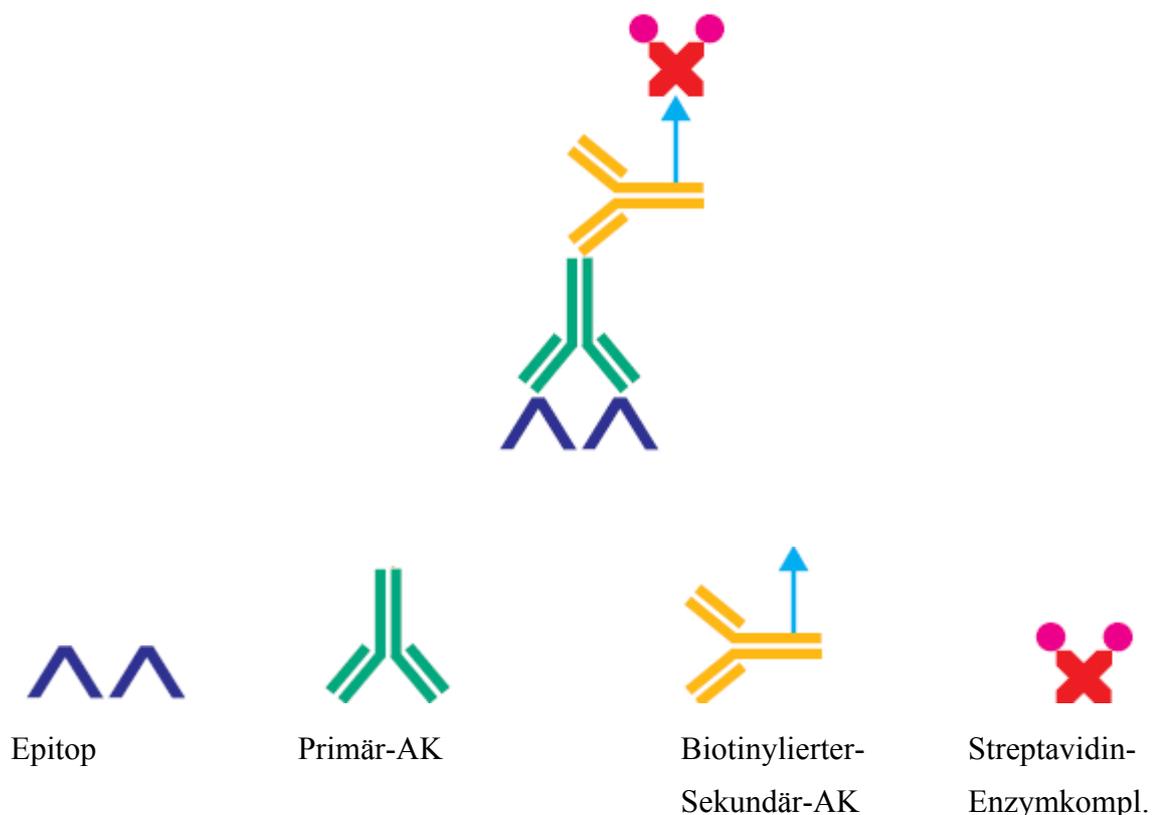


Abbildung 5: Prinzip der Immunhistologie (Nach „Handbuch Immunchemische Färbemethoden“ 3. Auflage, Copyright 2003 DakoCytomation Corp., Carpinteria, CA, USA)

3.2.2 Immunhistochemische Färbungen mit JunB

Um ein weiteres Unterscheidungskriterium zwischen den beiden Erkrankungen zu bekommen, wurden von den 80 Gewebeproben immunhistochemische Färbungen angefertigt. Es wurde angenommen, dass die JunB Expression bei Patienten mit Psoriasis palmoplantaris deutlich erhöht ist, im Vergleich zu Patienten mit Hand- und Fußekzem. Diese Hypothese wurde durch die Ergebnisse der Untersuchungen der JunB Expression in der Haut von Patienten mit Psoriasis von Johansen und Kulski 2004 und 2005 gestützt (Johansen, Kragballe et al. 2004; Kulski, Kenworthy et al. 2005). Es wurde folgendermaßen vorgegangen:

Zuerst wurden die in Paraffin eingebetteten Gewebeproben über Nacht in einem Kühlschrank auf 4 °C heruntergekühlt. Am nächsten Tag wurden für die immunhistochemische Färbung am Mikrotom 3-4µm dicke Schnitte angefertigt und auf Dako REAL™ Capillary Gap Microscope Slides, 100 µm Objektträgern fixiert. Die fixierten Schnitte wurden bis zu ihrer Weiterverarbeitung kühl und trocken gelagert oder sofort weiterverarbeitet. Die Färbungen wurden mittels einer etablierten Methode zur immunhistochemischen Färbung von Paraffinschnitten durchgeführt: Die Schnitte wurden für mindestens eine Stunde in einem 60°C Brutschrank in der Histologie der Hautklinik des Universitätsklinikums Freiburg erwärmt, damit sich das Paraffin besser löst. Direkt im Anschluss wurden die Schnitte nach folgendem Protokoll entparaffiniert:

Tabelle 2: Entparaffinierungsprotokoll

Flüssigkeit	Dauer
Xylol	7 Minuten
Xylol	7 Minuten
Xylol	7 Minuten
100 % Ethanol	3 Minuten
100 % Ethanol	3 Minuten
95 % Ethanol	3 Minuten
95 % Ethanol	3 Minuten
80 % Ethanol	1 Minute
70 % Ethanol	1 Minute
50 % Ethanol	1 Minute

Die entparaffinierten Schnitte wurden anschließend kurz in destilliertem Wasser gewaschen und in die Dako TechMate™ Horizon Färbemaschine eingesetzt. In diversen vor-

hergehenden Untersuchungen zur Antigen-Demaskierung (Antigen-Retrieval) durch Citrat-Puffer und/oder Erhitzen zeigte sich keine Verbesserung der Ergebnisse. Zuvor wurde die Färbemaschine komplett beladen und die Dako REAL™ Reagent Trays for use with the TechMate™ Horizon mit Reagenzien befüllt. Die Verdünnung des Primärantikörpers Mouse monoclonal antibody Jun B (C-11) sc-8051 (*Santa Cruz Biotechnology, Inc.*) mit Dako REAL™ Antibody Diluent betrug 1:200. Bei dieser in vorhergehenden Verdünnungsreihen bestimmten Verdünnung zeigte sich die bestmögliche spezifische Färbung mit der wenigsten Hintergrundaktivität. Für die Färbungen durch die Dako TechMate™ Horizon Färbemaschine wurde das Protokoll MSAPAL gewählt, welches auch in der Routine Diagnostik der Universitätshautklinik Freiburg verwendet wird.

Tabelle 3: MSAPAL-Protokoll

Schritte	Dauer
Inkubation mit Primärantikörper Mouse monoclonal antibody: Jun B (C-11): sc-8051 <i>Santa Cruz Biotechnology, Inc.</i>	30 Minuten
Waschen in Dako REAL™ Wash Buffer	5 Minuten
Inkubation mit Dako REAL™ Biotinylated Secondary Antibodies (Sekundärantikörper)	30 Minuten
Waschen in Dako REAL™ Wash Buffer	5 Minuten
Inkubation mit Dako REAL™ Streptavidin Alkaline Phosphatase	30 Minuten
Waschen in Dako REAL™ Wash Buffer	5 Minuten
Inkubation mit Dako REAL™ Chromogen Red und Dako REAL™ AP Substrate Buffer	2 Minuten
Waschen in Dako REAL™ Wash Buffer	5 Minuten
Inkubation mit Dako REAL™ Hematoxylin	1 Minute
Eintauchen in Küvette gefüllt mit Aqua dest.	2 Minuten

Im Anschluss daran wurden die Objektträger mit Eindeckmedium feucht eingedeckelt und anschließend untersucht.

3.3 Verbrauchsmaterialien

Für die immunhistochemischen Färbungen mit JunB wurden folgende Materialien verwendet:

1. Paraffin-Schnitte 4µm dick auf Dako REAL™ Capillary Gap Microscope Slides, 100 µm (grau), [DAKO S2024]
2. 60 °C Brutschrank in der Histologie der Universitätshautklinik Freiburg
3. 4 °C Kühlschrank in der Histologie der Universitätshautklinik Freiburg
4. Alkoholreihe zum Entparaffinieren im Molekulare Dermatologie I Labor: 3 mal Xylol, 2 mal 100% Ethanol, 2 mal 95% Ethanol, 1 mal 80% Ethanol, 1 mal 70% Ethanol, 1 mal 50% Ethanol
5. Grüne Plastik Küvette gefüllt mit Aqua Dest.
6. Dako REAL™ Absorbent Pads for TechMate™ Horizon [DAKO S2043]
7. Dako REAL™ Reagent Trays for use with the TechMate™ Horizon [DAKO S2039]
8. Dako REAL™ Buffer Kit 4 x 500ml [DAKO K5006]
 - a. Dako REAL™ Wash Buffer 1 (BUF1)
 - b. Dako REAL™ Wash Buffer 2 (BUF2)
 - c. Dako REAL™ Wash Buffer 3 (BUF3)
 - d. Dako REAL™ Water Wash (H2O)
9. Dako REAL™ Detection Systems (LSAB+) [DAKO K5005]
 - a. Dako REAL™ Biotinylated Secondary Antibodies (AB2)
 - b. Dako REAL™ Streptavidin Alkaline Phosphatase (AP)
 - c. Dako REAL™ Chromogen Red 1
 - d. Dako REAL™ Chromogen Red 2
 - e. Dako REAL™ Chromogen Red 3
 - f. Dako REAL™ AP Substrate Buffer
10. Dako REAL™ Antibody Diluent [DAKO S2022]
11. Dako REAL™ Hematoxylin [DAKO S2020]
12. Mouse monoclonal antibody: Jun B (C-11): sc-8051 Santa Cruz Biotechnology, Inc. 1.0 ml
13. Dako TechMate™ Horizon Färbemaschine

3.4 Histologische Auswertung

Die mikroskopischen Untersuchungen wurden jeweils von 2 unabhängigen Untersuchern durchgeführt. Es wurden pro Patient mindestens 5 verschiedene Schnittebenen in mindestens 3 verschiedenen Auflösungen untersucht, um eine größtmögliche Objektivität zu erreichen. Des Weiteren wurden die PAS-Färbungen von allen Patienten auf Hyphen, Sporen oder andere Anzeichen einer Pilzerkrankung hin analysiert. Die immunhistochemischen Untersuchungen auf JunB wurden semiquantitativ nach Intensität innerhalb der Schnitte (oben, mitte, unten) beurteilt.

3.5 Statistische Auswertung

Es wurden von allen Patienten im Patientenkollektiv die erhobenen klinischen, histologischen und immunhistologischen Befunde in einer Datenbank festgehalten und ausgewertet. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi-Quadrat-Test nach Fisher angewendet. Als statistisch signifikant wurde ein Unterschied ab $p < 0,05$ definiert.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Fallsuche

Durch unsere Fallsuche fanden wir im Zeitraum von Januar 2005 bis April 2006 insgesamt 100 Patienten die nach den von uns vorher festgelegten Kriterien als mögliche Kandidaten für die Studie in Frage kamen. Davon fielen jedoch 20 Patienten wieder aus folgenden Gründen aus der Studie: Fehlende Gewebeproben (n=3), inkonsistente Lokalisation wie akral dorsal und nicht palmoplantar (n=14) und falsche Diagnose (n=3). In die endgültige Studie wurden demnach 80 Patienten inkludiert.

4.2 Charakterisierung der Patienten

4.2.1 Alter und Geschlecht

Von den von uns untersuchten Patienten (n=80) waren 42 weiblich und 38 männlich. Der jüngste Patient war 12 Jahre alt, der älteste 85 Jahre alt. Das Durchschnittsalter betrug dementsprechend 46,6 Jahre.

4.2.2 Eigenanamnese für Psoriasis

Bei 14 Patienten (=17,5%) fand sich zusätzlich zu den palmoplantaren Effloreszenzen eine Mitbeteiligung von Psoriasis an anderen Körperregionen. Am häufigsten waren Ellbeugen und Kopfhaut betroffen.

4.2.3 Familienanamnese für Psoriasis

Von den 80 Patienten der Studie gaben 13 Patienten (=16,25%) eine positive Familienanamnese für Psoriasis an. Dies beinhaltete Verwandtschaftsverhältnisse 1. Grades (Vater, Mutter, Geschwister, Großeltern, Onkel und Tante).

4.2.4 **Eigenanamnese für Atopie**

Eine positive Eigenanamnese für Atopie (Asthma bronchiale, Neurodermitis) gaben 14 Patienten (=17,5%) an, 32 machten keine Angabe und 34 hatten eine negative Eigenanamnese für Atopie.

4.2.5 **Familienanamnese für Atopie**

In der Familienanamnese gaben 15 (18,75%) Patienten eine positive Familienanamnese für Atopie an. Dies beinhaltete nur Verwandtschaftsverhältnisse 1. Grades. Am häufigsten waren Söhne und Töchter der Patienten betroffen.

4.2.6 **Epicutantest**

Einen positiven Epicutantest zur Allergiediagnostik hatten insgesamt 28 Patienten (=35%). Die häufigste Allergie war hierbei eine Nickelallergie (n=11). Bei 13 Patienten (=16,25%) fand sich ein unauffälliger Epicutantest. Bei den restlichen 39 Patienten fand sich keine Angabe zu einem durchgeführten Epicutantest zur Allergiediagnostik.

4.2.7 **Pricktest**

Im Pricktest zeigten 13 (=16,25%) Patienten einen pathologischen Befund. Am häufigsten konnte eine Hausstaubmilbenallergie sowie eine Allergie auf Gräser und Pollen nachgewiesen werden. 3 Patienten hatten einen nachweislich unauffälligen Pricktest. Von den restlichen 64 Patienten fanden sich keine Informationen zu einem zur Allergiediagnostik durchgeführten Pricktest.

4.2.8 **Rauchen**

Von den 80 Patienten gaben 14 (=17,5%) Patienten an zu rauchen, 18 (=22,5%) Patienten gaben an Nichtraucher zu sein und von 48 (=60%) Patienten fand sich keine Angabe hierzu.

4.2.9 Gesamt Serum IgE

Bei 52 Patienten (=65%) fand sich in der Patientenakte ein Wert für das gesamt Serum IgE. Von diesen 52 Patienten hatten 22 Patienten (=42,3%) einen pathologisch erhöhten Wert von mehr als 100 kU/l.

4.3 Histologische Untersuchung

4.3.1 Erste histologische Untersuchung

Als erstes wurden von 2 unabhängigen Untersuchern, ohne das Wissen der klinischen Diagnose, pro Patient die Objektträgerpräparate in mindestens 5 verschiedenen Schnittebenen in mindestens 3 verschiedenen Auflösungen untersucht, um eine größtmögliche Objektivität zu erreichen. Von den 80 Patienten wurden die HE-gefärbten Schnitte von einem staatlich anerkannten Dermatopathologen (MBF) ohne das Wissen der klinischen Diagnose auf die von uns aufgestellten histologischen Kriterien hin untersucht und in 3 Gruppen eingeteilt.

1. Höchstwahrscheinlich Psoriasis
2. Höchstwahrscheinlich Ekzem
3. Nicht eindeutig differenzierbar

Es fanden sich n=39 Patienten in der Gruppe „Höchstwahrscheinlich Psoriasis“, n=28 in der Gruppe „Höchstwahrscheinlich Ekzem“ und n=23 in der Gruppe „Nicht eindeutig histologisch differenzierbar“.

Als nächstes korrelierten wir die vom Dermatopathologen (MBF) gestellte histologische Diagnose mit der klinischen Diagnose, welche durch einen Dermatologen der Universitätshautklinik Freiburg vor der histologischen Untersuchung gestellt worden war. Dadurch erhielten wir 49 Fälle, bei denen sowohl die histologisch als auch die klinisch gestellte Diagnose übereinstimmte. Davon konnten 29 Fälle als Psoriasis und 20 Fälle als Ekzem diagnostiziert werden. Wir gingen davon aus, dass diese 49 kongruenten Fälle die zugrunde liegenden Erkrankungen mit der größtmöglichen Zuverlässigkeit repräsentieren. Diese 49 Fälle wurden dann von uns hinsichtlich ihres Potentials zur Unterscheidung zwischen palmoplantarer Psoriasis und Ekzem auf verschiedene histologische und klinische Merkmale hin evaluiert. Die übrigen 31 Fälle, die entweder klinisch

nicht eindeutig differenzierbar waren, oder bei denen die histologische Diagnose nicht mit der klinischen Diagnose übereinstimmte, wurden in einer dritten Gruppe zusammengefasst, die wir „Diskrepante Fälle“ nannten.

4.3.2 Evaluation der Kriterien der kongruenten Fälle

Insgesamt wurden 17 histologische und ein klinisches Kriterium, welches für Psoriasis spricht und 9 histologische und 5 klinische Kriterien, welche für ein Ekzem sprechen, auf ihre Signifikanz hin untersucht. Die Auswahl der Kriterien wurde anhand der Erfahrungen der ersten histologischen Untersuchung getroffen. Um die Signifikanz zu prüfen wurde sowohl der Chi-Quadrat-Test als auch der Fisher-Exakt-Test für alle Kriterien durchgeführt. Die Ergebnisse der Evaluation der kombinierten Kriterien, die für Psoriasis sprechen, sind in folgender Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 4: Kombinierte Kriterien, die für Psoriasis sprechen

Kriterium	Psoriasis		Ekzem		Chi-Quadrat	Fisher-Exakt Test
	ja	nein	ja	nein		
Ortho- über Parakeratose	23	6	6	14	0.01	0.001
Abgestufte Parakeratose	15	14	1	19	0.001	0.001
Neutrophile Granulozyten im Stratum corneum	24	4	12	8	0.043	0.088
Neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose	21	8	2	18	<0.0001	<0.0001
Munro´sche Mikroabszesse	16	13	2	18	0.001	0.002
Psoriasiforme Hyperplasie	22	7	6	14	0.001	0.003
Ausdünnung der Suprapapillarplatte	20	9	3	17	<0.0001	<0.0001
Stellenweise Hypogranulose	22	7	9	11	0.028	0.038
Vermehrte Mitosen an der Basalmembran	15	14	11	9	0.821	1.0
Vermehrte Mitosen oberhalb der Basalmembran	10	19	7	13	0.97	1.0
Neutrophile Granulozyten in der Epidermis	15	14	3	17	0.009	0.015
Spongiforme Pusteln	14	15	0	20	<0.0001	<0.0001

Subcorneale Pusteln	16	13	1	19	<0.0001	<0.0001
Neutrophile Granulozyten am Rand der Pustel	13	16	0	20	<0.0001	<0.0001
Suprapapilläre Spongiose	11	18	7	13	0.834	1.0
Neutrophile Gran. als Teil des Entzündungsinfiltrates	11	18	2	18	0.03	0.047
Dilatierte torquierte papilläre Kapillare	11	18	2	18	0.03	0.047
Psoriasis in der Familie	7	22	1	19	0.075	0.119

Die Ergebnisse der Evaluation der kombinierten Kriterien, die für ein Ekzem sprechen, sind in folgender Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 5: Kombinierte Kriterien, die für ein Ekzem sprechen

Kriterium	Psoriasis		Ekzem		Chi-Quadrat	Fisher - Exakt Test
	ja	nein	Ja	nein		
Serum im Stratum Corneum	14	15	12	8	0.42	0.56
Serumkruste	8	21	10	10	0.11	0.14
Ungleichmäßige epidermale Hyperplasie	7	22	14	6	0.01	0.03
Hypergranulose	4	25	6	14	0.167	0.279
Intraepidermale Bläschen	5	24	6	14	0.29	0.32
Spongiose über der Reteleiste	7	22	11	9	0.028	0.038
Eosinophile Granulozyten in der Epidermis	0	29	1	19	0.224	0.408
Eosinophile als Teil des Entzündungsinfiltrat	2	27	5	15	0.075	0.105
Grobe Bündel von Kollagenfasern in vertikalen Streifen im Stratum papillare	2	27	2	18	0.697	1.0
Erhöhtes Serum IgE	5	13	8	5	0.005	0.01
Atopie	1	11	7	7	0.022	0.036
Positiver Patch-Test	10	5	6	6	0.38	0.45

Positiver Prick-Test	2	0	4	1	0.495	1.0
Raucher	4	9	5	3	0.154	0.203

In der Evaluation der histologischen Kriterien, die für eine Psoriasis sprechen, fanden sich einige statistisch signifikante Kriterien. Merkmale, die statistisch signifikant ($p < 0,05$) häufiger bei Psoriasis palmoplantaris auftraten, waren „Ortho- über Parakeratose“, „abgestufte Parakeratose“, „neutrophile Granulozyten im Stratum Corneum“, „neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose“, „Munro’sche Mikroabszesse“, „psoriasisiforme Hyperplasie“, „Ausdünnung der Suprapapillarplatte“, „stellenweise Hypogranulose“, „neutrophile Granulozyten in der Epidermis“, „spongiforme Pusteln“, „subkorneale Pusteln“, „neutrophile Granulozyten am Rand der Pusteln“, „neutrophile Granulozyten als Teil des Entzündungsinfiltrats“ und „dilatierte torquierte papilläre Kapillare“. Wir konnten also zeigen, dass die klassischen histologischen Merkmale für Psoriasis in nicht akraler Lokalisation auch auf die Psoriasis palmoplantaris zutreffen.

Auffällig war jedoch, dass vermehrte Mitosen an der Basalmembran und oberhalb der Basalmembran bei beiden Erkrankungen gesehen werden konnten. Das Auftreten von vermehrten Mitosen könnte somit als unspezifische zelluläre Reaktion auf einen beschleunigten Zellumsatz hinweisen.

Auch das Merkmal „Hypergranulose“ zeigte einen kleinen Unterschied zwischen Psoriasis und Ekzem. Es fand sich nur bei 4 von 29 Psoriasis Patienten (=13,8%) jedoch bei 6 von 20 Ekzem Patienten (=30%). Der Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant.

Als klinisches Kriterium für eine Psoriasis wählten wir das Kriterium Psoriasis in der Familie. Bei 7 der 29 Psoriasisfälle (=24,2%) konnte in der Familie ebenfalls Psoriasis nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu wurde nur bei einem von 20 Ekzem Patienten (5%) eine positive Familienanamnese für Psoriasis berichtet. Dieser Unterschied war jedoch statistisch knapp nicht, signifikant.

Als nächstes evaluierten wir die histologischen und klinischen Kriterien, die für ein Ekzem sprechen bezüglich ihrer Signifikanz. Insgesamt wurden 9 histologische Merkmale und 5 klinische Merkmale untersucht. Die Auswahl wurde erneut aufgrund der Erfahrungen der ersten histologischen Untersuchung getroffen. Es wurden Kriterien ausge-

wählt, bei denen eine größtmögliche Differenzierbarkeit zwischen den beiden Erkrankungen erwartet wurde.

Wie zu erwarten war, zeigte die epidermale Hyperplasie bei 14 der 20 Ekzem Patienten (=70%) ein ungleichmäßiges Bild. Im Vergleich dazu fand sich dieses histologische Kriterium nur bei 7 der 29 Psoriasis Patienten (=24,2%). Somit konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen in der Struktur der epidermalen Hyperplasie nachgewiesen werden.

Ebenso zeigte das histologische Kriterium „Spongiose über den Reteleisten“ einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen. Es fand sich nur bei 7 der 29 Psoriasis Patienten (=24,2%), jedoch bei über der Hälfte der Ekzem Patienten, um genau zu sein bei 11 von 20 (=55%). Der Unterschied war statistisch signifikant, allerdings nicht so deutlich wie der Vergleich der Form der epidermalen Hyperplasie.

Interessanterweise zeigten die anderen histologischen Kriterien, die für ein Ekzem sprechen, „Serum im Stratum Corneum“, „Serumkruste“, „Hypergranulose“, „intraepidermale Bläschen“, „Eosinophile Granulozyten in der Epidermis“, „Eosinophile Granulozyten als Teil des Entzündungsinfiltrats“ und „Grobe Bündel von Kollagenfasern in vertikalen Streifen im Stratum papillare“ keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Psoriasis und Ekzem.

Das Kriterium „Eosinophile Granulozyten als Teil des Entzündungsinfiltrats“ wurde nur bei 2 von 29 Psoriasis Patienten (=6,9%) beobachtet, konnte allerdings bei 5 von 20 Ekzem Patienten (=25%) beobachtet werden. Dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant.

Als klinische Merkmale, die für ein Ekzem sprechen, wurden die Kriterien „erhöhter gesamt IgE-Spiegel im Serum“, „Atopie“, „positiver Patch-Test“, „positiver Prick-Test“ und „Raucher“ ausgewählt. Leider konnten die entsprechenden Informationen nicht von allen Patienten akquiriert werden, da sie in der elektronischen sowie nicht elektronischen Patientenakte nur unzureichend dokumentiert waren. Es fand sich jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied in 2 der 5 klinischen Merkmale:

Ein erhöhter gesamt IgE-Spiegel im Serum wurde definiert als Wert über 100 kU/l. Der Serum IgE Wert wurde bei 18 Psoriasis Patienten und 13 Ekzem Patienten dokumentiert. Es fand sich bei 5 Psoriasis Patienten ein erhöhter Wert von über 100kU/l

(=27,7%). Von den Ekzem Patienten, bei denen ein gesamt IgE Wert dokumentiert wurde, hatten jedoch deutlich mehr als die Hälfte, das heißt 8 von 13 (=61,5%) der Ekzem Patienten, einen erhöhten Serum IgE Wert. Dieser Unterschied war somit statistisch signifikant.

Ebenso konnte ein großer Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen bei dem klinischen Merkmal „Atopie“ nachgewiesen werden. So gab nur 1 Psoriasis Patient eine positive Familienanamnese für Atopie an, wohingegen 7 von 14, also genau die Hälfte der dokumentierten Ekzem Patienten eine positive Familienanamnese für Atopie hatten. Auch dieses Kriterium war somit statistisch signifikant.

Die 3 anderen für ein Ekzem sprechenden klinischen Kriterien „positiver Prick-Test“, „positiver Patch-Test“ und „Raucher“ zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen. Möglicherweise könnte eine Ursache dafür in der unzureichenden Dokumentation der Anamnese liegen.

4.3.3 Anwendung der signifikanten Kriterien auf die sicheren Fälle

Um einen möglichst effektiven Weg der Diagnosefindung zu erreichen, wurden als nächstes ausschließlich die Kriterien untersucht, welche zuvor als signifikante Kriterien identifiziert wurden. Es wurden also von den ursprünglich 17 histologischen und einem klinischen Kriterium, welche für eine Psoriasis palmoplantaris sprechen, nur die 13 histologischen Kriterien verwendet, die im Chi-Quadrat-Test einen Wert $<0,05$ erreicht hatten. Ebenso wurden von den ursprünglich 9 histologischen und 5 klinischen Kriterien, welche für ein Hand- und Fußekzem sprechen, lediglich 2 histologische und 2 klinische statistisch signifikante Merkmale benutzt.

Pro Patient verteilten wir dementsprechend Punkte, für das Vorhandensein eines Kriteriums, welches für Psoriasis spricht, und vergaben negative Punkte für das Vorhandensein eines Kriteriums, das für ein Ekzem spricht. Daraus ergab sich für jeden Patienten ein Gesamtwert zwischen 13 Punkten und -4 Punkten.

In der Gruppe der sicheren Psoriasispatienten fand sich in 25 von 29 (=86,2%) Fällen ein Gesamtwert von 5 Punkten und mehr. Der Durchschnittswert der Psoriasispatienten mit einem Gesamtwert über 5 Punkten lag bei genau 8 Punkten. In der Gruppe der sicheren Ekzempatienten zeigte sich in 16 von 20 (=80%) der Fälle ein Gesamtwert von 2 Punkten und weniger. Der Durchschnittswert der 16 Patienten mit einem Gesamtwert von 2 Punkten und weniger lag bei -1,6. Wir definierten daher einen Wert von über 5 Punkten als höchstwahrscheinlich Psoriasis und einen Wert unter 2 Punkten als höchst-

wahrscheinlich Ekzem. Für die insgesamt 8 Patienten (=16%) mit 3 oder 4 Punkten konnte keine klare Zuordnung erfolgen. Dieser Punktebereich wurde von uns als Graubereich definiert. Für die übrigen 41 Patienten (=84%) konnte durch zu Hilfenahme unserer Kriterien eine sichere Diagnose gestellt werden.

Um unser Punktesystem weiter zu verfeinern, und um eine leichtere und schnellere Anwendung im Alltag zu ermöglichen, wurden in einem letzten Schritt lediglich 6 der 13 statistisch signifikanten histologischen Kriterien, die für eine Psoriasis palmoplantaris sprechen, sowie die zuvor benutzten 4 Kriterien, die für ein Ekzem sprechen, benutzt. Daraus ergab sich für jeden Patienten ein Gesamtwert zwischen 6 und -4 Punkten, da die Ekzempunkte erneut als Negativ-Werte gerechnet wurden.

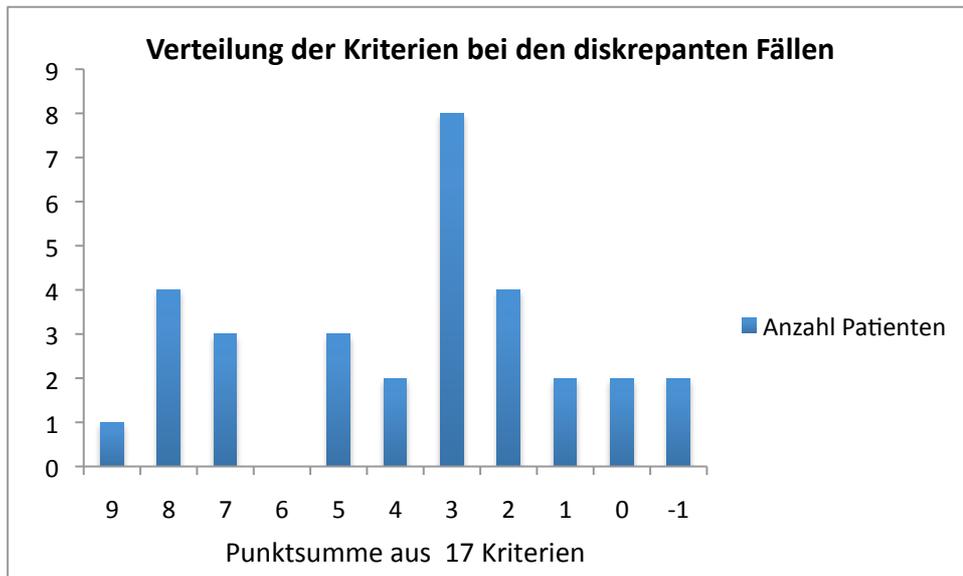
Bei 25 der 29 Psoriasispatienten (=86,4%) fand sich ein Gesamtpunktwert von 2 und mehr Punkten. Der Durchschnittswert dieser 25 Patienten lag bei 3,96 Punkten. Ebenso wurden für die Ekzempatienten Punkte ermittelt, um die Diagnosefindung zu vereinfachen. 16 der 20 Patienten (=80%) erreichten einen Punktwert von 0 und weniger, der Durchschnitt lag bei -1,56 Punkten. 4 Patienten hatten einen Wert von 1 und mehr Punkten.

4.3.4 Anwendung der signifikanten Kriterien auf die diskrepanten Fälle

Als nächster Schritt wurden die von uns als statistisch signifikant nachgewiesenen Kriterien auf die von uns zuvor als Gruppe der diskrepanten Fälle zugeordneten Patienten angewendet. Wie schon bei den kongruenten Fällen wurden auch bei den diskrepanten Fällen 15 histologische und 2 klinische Merkmale evaluiert, um pro Patient Punktwerte zwischen 13 und -4 zu erreichen.

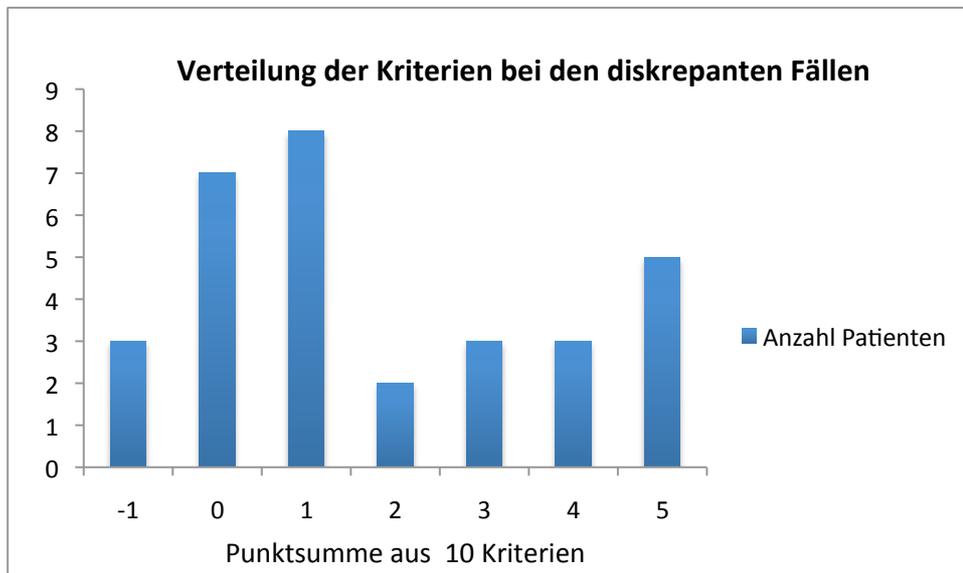
Die Ergebnisse dieser Untersuchung finden sich in folgender Tabelle:

Tabelle 6: Untersuchung der „diskrepanten Fälle“ mit 17 Kriterien



Als nächstes untersuchten wir die „diskrepanten Fälle“ mit nur noch 10 Kriterien. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 7: Untersuchung der „diskrepanten Fälle“ mit 10 Kriterien



Aufgrund des von uns zuvor erarbeiteten Punktesystems konnten wir mit Hilfe der 17 Kriterien 10 Patienten als Ekzem-Patienten, 11 als Psoriasis palmoplantaris und 10 Patienten im Graubereich identifizieren. Durch das vereinfachte Punktesystem konnten wir erneut 10 Patienten als Ekzem-Patienten, 13 als Psoriasis palmoplantaris und 8 Patienten im Graubereich identifizieren.

4.4 Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit JunB

4.4.1 JunB bei Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzemen

Um ein mögliches weiteres Kriterium zur Unterscheidung zwischen Psoriasis und Ekzem zu bekommen, wurden bei allen Patienten immunhistochemische Färbungen mit JunB durchgeführt. Zur Auswertung kamen jedoch nur die 49 Fälle, bei denen eine eindeutige Zuordnung zu Psoriasis oder Ekzem möglich war. Die 31 diskrepanten Fälle wurden zunächst nicht berücksichtigt. Im Folgenden sind die Beispiele der Expressionsverteilung von JunB bei der Psoriasis palmoplantaris sowie beim Hand- und Fußekzem gezeigt.

Die Abbildungen 6 und 7 sowie 8 und 9 zeigen in allen 3 Schichten eine deutliche Überexpression von JunB und bekamen dafür jeweils 3 Punkte pro Schicht.

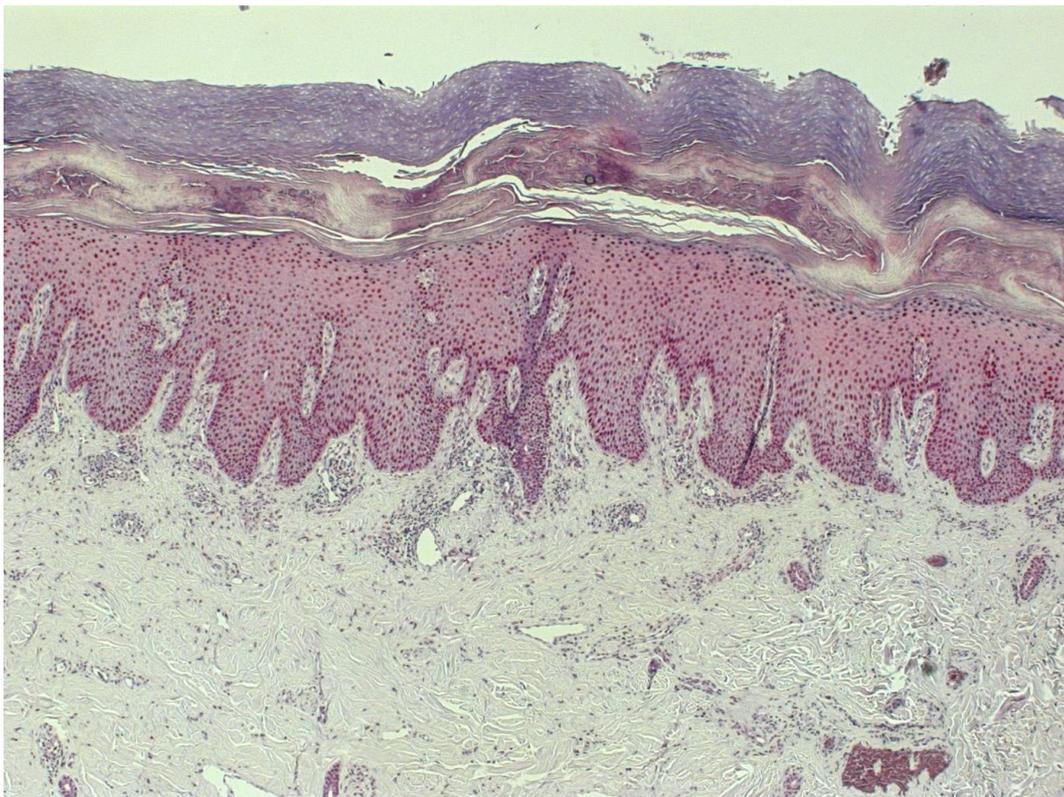


Abbildung 6: JunB Expression bei palmoplantarer Psoriasis (5x)

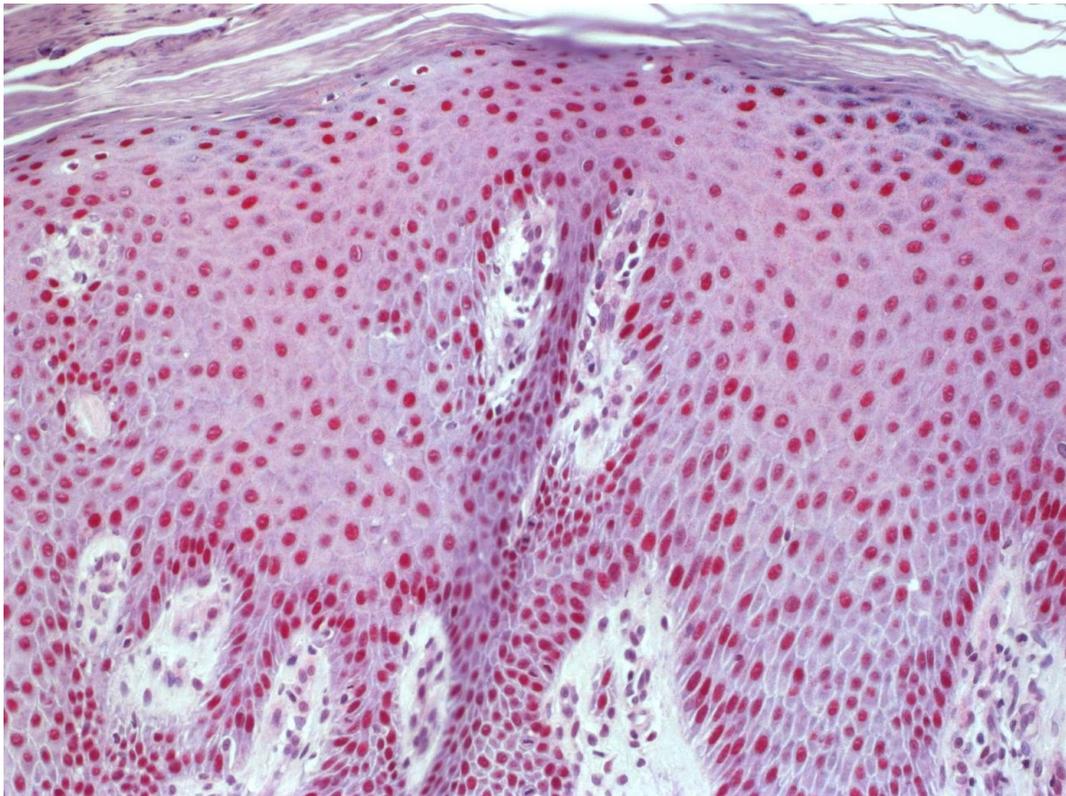


Abbildung 7: JunB Expression bei palmoplantarer Psoriasis (Ausschnitt aus Abbildung 6, 20x)

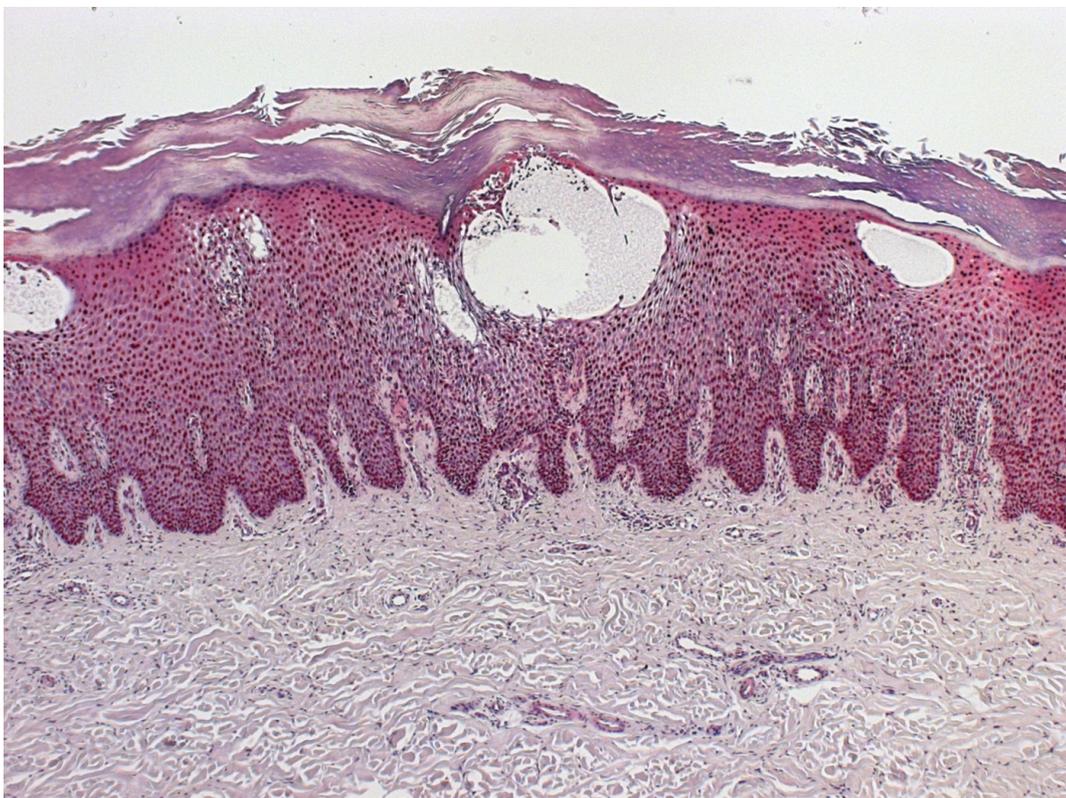


Abbildung 8: JunB Expression bei dyshidrosiformen Handekzem (10x)

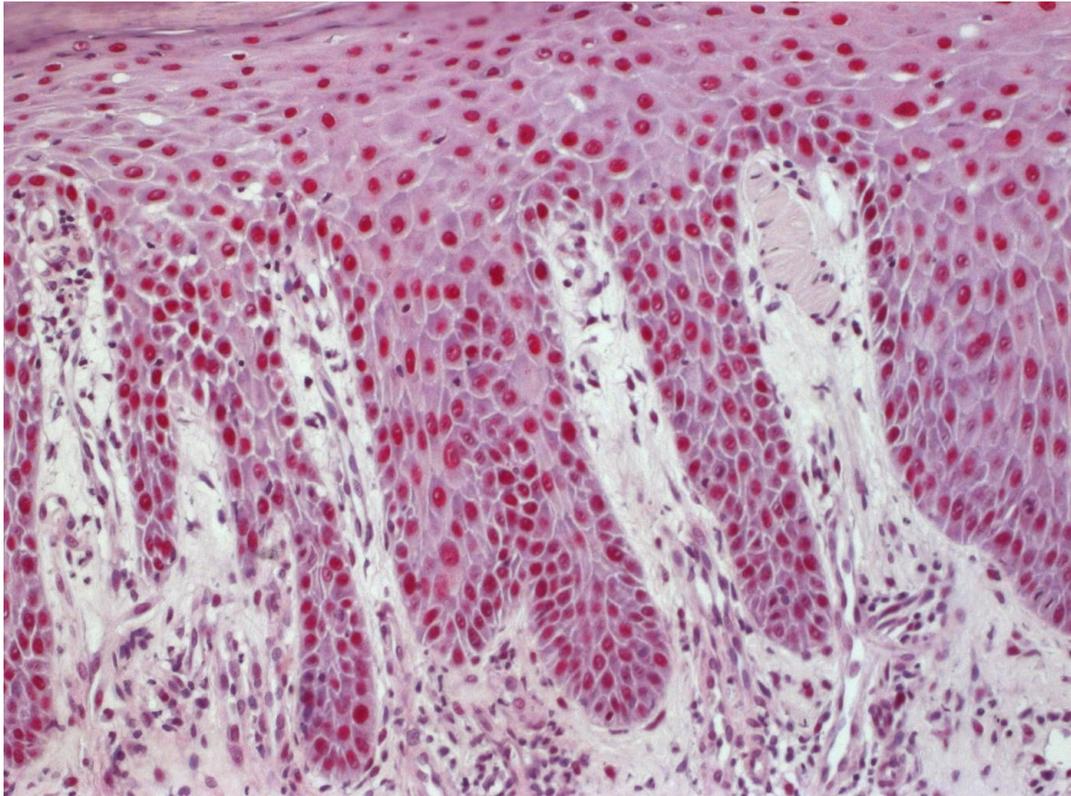


Abbildung 9: JunB Expression beim dysyhidrosiformen Handekzem (Ausschnitt aus Abbildung 8, 20x)

Die vergleichende Auswertung der Ergebnisse der Färbungen der 49 Fälle sind in den Tabellen 8 und 9 zusammengefasst. Untersucht wurde die Expression von JunB im Zellkern aus unterschiedlichen Schichten der Epidermis. Die Auswertung der immunhistochemischen Färbung erfolgte durch zwei unabhängige Untersucher, um eine größtmögliche Objektivität zu erzielen. Um die Intensität der Immunreaktivität zu semiquantitativ zu erfassen, wurde eine 3 Punkte Skala angewendet: 1 Punkt für wenig Immunreaktivität, 2 Punkte für mittelviel Immunreaktivität und 3 Punkte für viel Immunreaktivität.

Tabelle 8: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen mit JunB

Lokalisation	Psoriasis Palmoplantaris	Hand- und Fußekzem
JunB Oben viel	23 (79%)	13 (65%)
JunB Oben mittel	4 (14%)	7 (35%)
JunB Oben wenig	2 (7%)	0 (0%)
JunB Mitte viel	14 (48%)	7 (35%)
JunB Mitte mittel	12 (41%)	9 (45%)
JunB Mitte wenig	3 (11%)	4 (20%)
JunB Unten viel	16 (55%)	8 (40%)
JunB Unten mittel	12 (41%)	8 (40%)
JunB Unten wenig	1 (4%)	4 (20%)

Um einen Gesamtwert zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Tabelle 6 zusammengefasst und in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 9: Zusammenfassung der JunB Ergebnisse

Lokalisation	Psoriasis palmoplantaris	Hand- und Fußekzem
JunB Oben	81 (93%)	53 (88%)
JunB Mitte	69 (79%)	43 (72%)
JunB Unten	73 (84%)	44 (73%)

In den zusammengefassten Ergebnissen zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied der beiden Erkrankungen bezüglich der Expression von JunB in den einzelnen Schichten der Epidermis. Bei der Durchsicht der Fälle entstand jedoch der Eindruck,

dass je intensiver die Entzündung und je ausgeprägter die Veränderungen im Vergleich zu gesunder Haut waren, umso stärker war auch die Expression von JunB. Dieser Aspekt wurde jedoch nicht weiter verfolgt. Es fand sich jedoch in allen Gewebeproben eine Überexpression von JunB im Vergleich zu gesunder Haut. In gesunder Haut von Handflächen und Fußsohlen ließ sich nur eine geringe Expression von JunB im Zellkern nachweisen. Diese Ergebnisse werden im Teil Diskussion weiter erörtert.

4.4.2 JunB bei anderen dermatologischen Erkrankungen

Als Kontrolle und zur Evaluation wie sich die JunB Expression bei anderen dermatologischen Erkrankungen verhält, wurden bei ausgewählten dermatologischen Erkrankungen weitere immunhistochemische Färbungen mit JunB angefertigt. Die Gewebeproben von jeweils 5 Patienten mit malignem Melanom, Basalzellkarzinom, Plattenepithelkarzinom sowie chronischem Ekzem und Psoriasis vulgaris in nicht palmoplantarer Lokalisation wurden hierfür verwendet. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass JunB kein spezifischer Marker für Psoriasis ist, sondern vielmehr ein unspezifischer Marker für Entzündung und Proliferation. Auch hier wurden jeweils maximal 3 Punkte für die Immunreaktivität in den einzelnen Schichten der Epidermis vergeben. Das heißt, pro Schicht waren maximal 15 Punkte erreichbar und insgesamt in allen 3 Schichten zusammen 45 Punkte. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Tabelle 10 aufgelistet:

Tabelle 10: JunB Expression bei anderen Dermatosen

Erkrankung	JunB Oben	JunB Mitte	JunB Unten	JunB Gesamt
Melanom	3	3	3	9
Basaliom	5	4	7	16
Spinaliom	12	11	13	36
Psoriasis vulgaris	15	13	15	43
Chronisches Ekzem	11	8	9	28

Angegeben ist die maximale kumulative Punktzahl aus jeweils 5 Patienten pro Erkrankung.

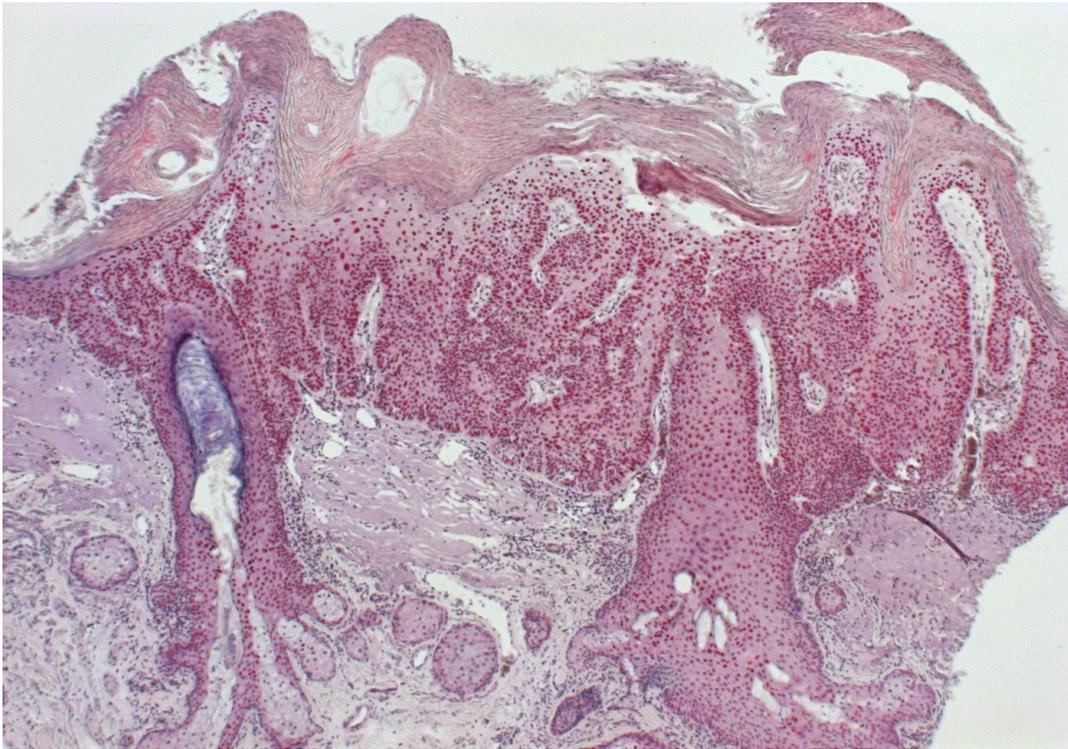


Abbildung 10: JunB Expression beim Plattenepithelkarzinom (5x)

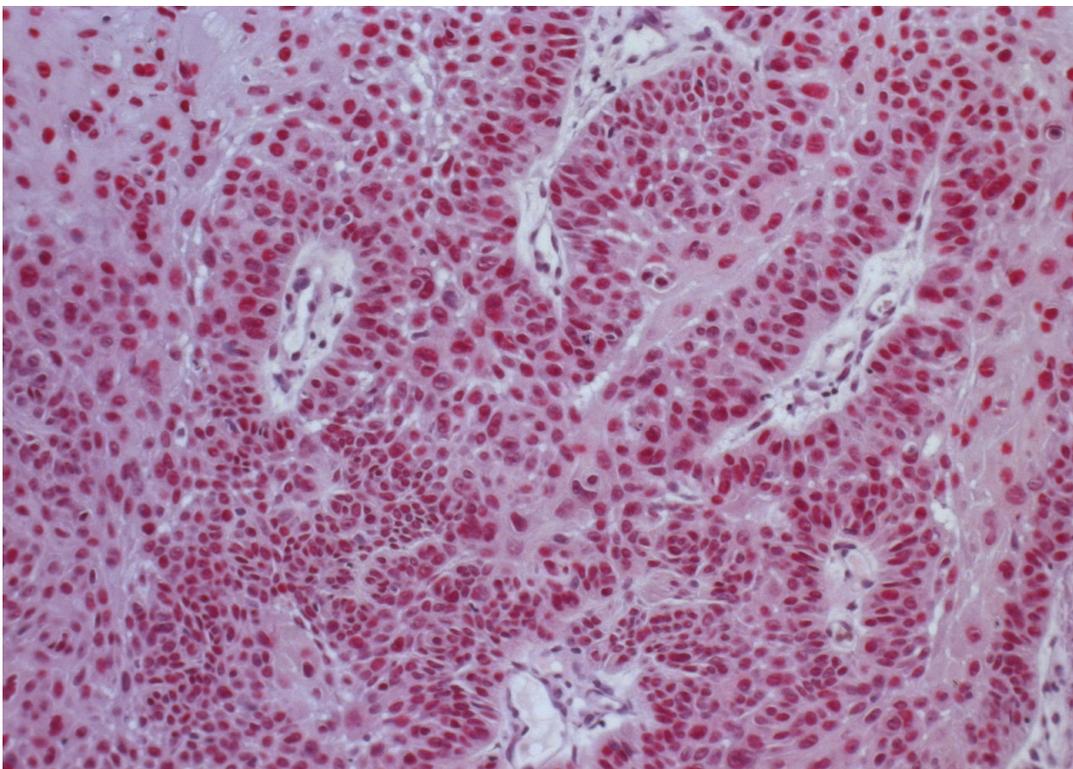


Abbildung 11: JunB Expression beim Plattenepithelkarzinom (20x, Ausschnitt aus Abbildung 10)

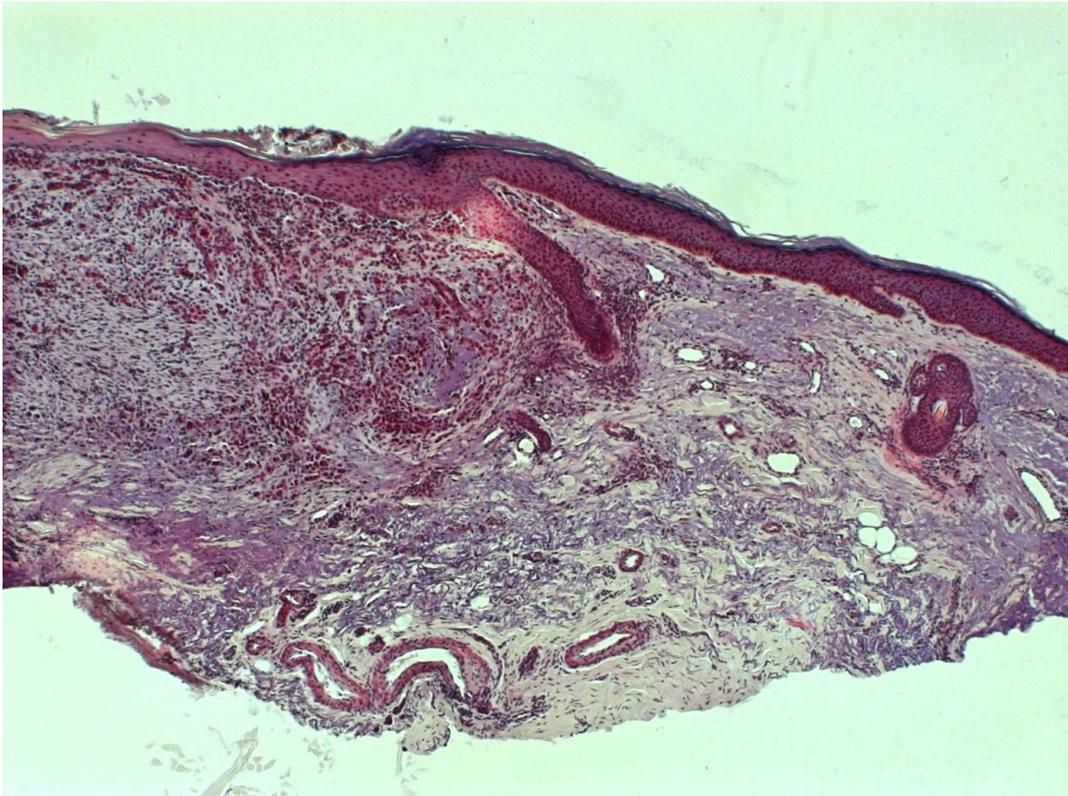


Abbildung 12: JunB Expression beim malignen Melanom (5x)

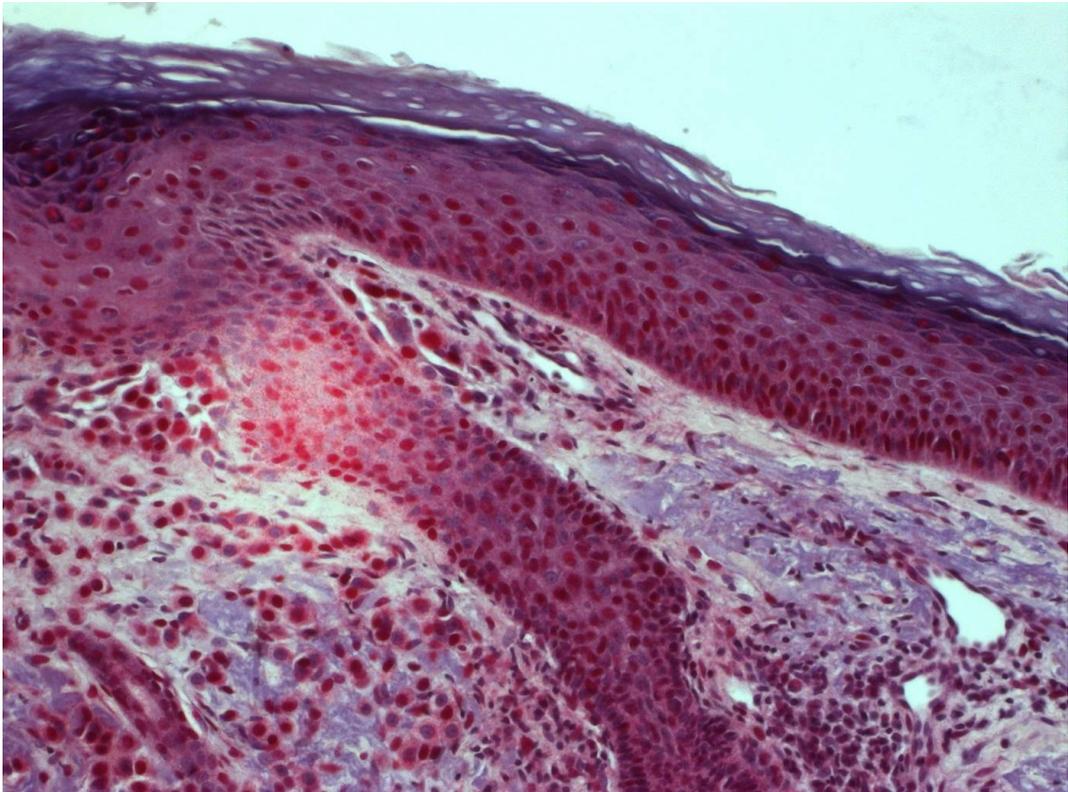


Abbildung 13: JunB Expression beim malignen Melanom (20x, Ausschnitt aus Abbildung 12)

Bei den Färbungen zeigte sich eine konstant starke JunB Überexpression in Gewebeproben von Patienten mit Psoriasis vulgaris und Patienten mit einem Spinaliom (siehe Abbildung 10 und 11). Interessanterweise war bei Patienten mit einem Basaliom die JunB Expression nur mäßig erhöht. Patienten mit einem chronischen Ekzem zeigten in allen 3 Schichten der Epidermis eine mittelstarke Überexpression von JunB.

Am interessantesten war jedoch die Expression von JunB bei Patienten mit einem malignen Melanom. Hier fand sich bei 4 der 5 Patienten keine erhöhte Expression von JunB, jedoch bei einem Patienten eine sehr starke Überexpression von JunB (siehe Abbildung 12 und 13). Natürlich sind solche Ergebnisse aufgrund der geringen Anzahl der Patienten nur bedingt aussagekräftig. Es wäre jedoch von großem wissenschaftlichen Interesse in der Zukunft hier weitere Forschungsarbeiten anzusetzen.

5 Diskussion

Zusammenfassung der Ergebnisse

In der Vorliegenden Arbeit wurden herkömmliche histologische Kriterien zur Differenzierung von Psoriasis vulgaris und Ekzemen auf ihren Nutzen zur Differenzierung dieser Erkrankungen in palmoplantarer Lokalisation ausgewertet. Hintergrund ist die Tatsache, dass bei Fehlen typischer Merkmale dieser Erkrankungen wie Pusteln bei Psoriasis bei Psoriasis palmoplantaris und Bläschen beim dyshydrosiformen Handekzem eine klinische Differenzierung äußert schwierig erscheint. Hierzu wurden die Standard-Kriterien zur Differenzierung von Psoriasis und Ekzem aus 3 bekannten Lehrbüchern der Dermatohistopathologie tabellarisch zusammengefasst sowie um 6 klinische Parameter ergänzt. Die einzelnen Kriterien wurden untergliedert in Psoriasis-Kriterien (n=18) und Ekzem-Kriterien (n=14). Zur Untersuchung kamen 80 Patienten mit entzündlichen Dermatosen in palmoplantarer Lokalisation. Diese Patienten wurden in einem ersten Schritt auf das Übereinstimmen der klinischen Verdachtsdiagnose und histologischen Bestätigungsdiagnose hin untersucht. Eine Übereinstimmung zwischen Klinik und Histologie lies auf ein mit hoher Wahrscheinlichkeit korrektes Vorliegen der jeweiligen Erkrankung schließen. Hieraus ergaben sich 3 Gruppen:

„höchstwahrscheinlich Psoriasis“ (n=29), „höchstwahrscheinlich Ekzem“ (n=20) und „diskrepante Fälle“ (n=31).

In einem nächsten Schritt wurden die ausgewählten Kriterien auf ihr Vorhandensein bei den höchstwahrscheinlich korrekt diagnostizierten Fällen hin überprüft. Hierbei zeigte sich, dass von den ursprünglich 32 Unterscheidungskriterien nur 17 eine signifikante Verteilung zwischen den Erkrankungsgruppen aufwiesen und 15 keinen statistisch signifikanten Unterschied zeigten.

Diese 17 Kriterien wurden zu einem Punktesystem zusammengefasst. Die Anwendung des Punktesystems auf die höchstwahrscheinlich korrekt diagnostizierten Fallgruppen ergab bei einem Punktwert von >5 eine Psoriasis palmoplantaris und bei <2 ein Ekzem. Fälle mit den Punktwerten 3 und 4 konnten nicht eindeutig zugeordnet werden. Nach diesem Schema war es möglich 84% der Patienten klar einer Erkrankung zuzuordnen. zem und ein Punktwert von 3 oder 4 als Graubereich. Dadurch konnten 84% der Patienten klar einer Erkrankung zugeordnet werden.

Im nächsten Schritt wurde zur weiteren Vereinfachung des Punktesystems eine erneute Kürzung auf 10 statistisch signifikante Kriterien durch Weglassung von 7 Kriterien durchgeführt. In diesem neuen System wurde eine Psoriasis diagnostiziert bei einem

Punktwert von 2 und mehr, ein Ekzem bei 0 und weniger. Ein Wert von 1 wurde als Graubereich betrachtet. In diesem System konnten ebenfalls 84% der höchstwahrscheinlich korrekt diagnostizierten Patienten richtig zugeordnet werden. Die 8 Patienten, welche im Punktesystem mit 17 Kriterien im Graubereich lagen, erreichten im Punktesystem mit 10 Kriterien jeweils einen Punkt und lagen erneut im Graubereich. Somit konnte mit nur 10 statistisch signifikanten Kriterien für 84% der Patienten eine klare Zuordnung zu einer Erkrankung erreicht werden.

Im Weiteren wurde das Punktesystem auf die 31 diskrepanten Fälle angewendet. Hierbei wurden 13 Patienten einer Psoriasis und 10 Patienten einem Ekzem zugeordnet werden. 8 Patienten lagen im Graubereich.

Bei den 10 Kriterien mit dem höchsten Differenzierungspotential zwischen palmoplantarer Psoriasis und palmoplantaren Ekzemformen handelt es sich um:

„Ortho- über Parakeratose“, „abgestufte Parakeratose“, „neutrophile Granulozyten im Stratum Corneum“, „neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose“, „Munro'sche Mikroabszesse“, „psoriasiforme Hyperplasie“, „Ausdünnung der Suprapapillarplatte“, „ungleichmäßige epidermale Hyperplasie“, „Spongiose über der Reteleiste“, und „erhöhtes Serum IgE“.

Parallel wurde die JunB-Expression bei Patienten mit palmoplantarer Psoriasis beziehungsweise Hand- und Fußekzem auf seinen Einsatz als Differenzierungsmaker hin untersucht. Es zeigte sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied in der JunB Expression zwischen den beiden Erkrankungen.

5.1 Evaluation histologischer und klinischer Kriterien zur Differenzierung von Psoriasis und unterschiedlichen Ekzemtypen in palmoplantarer Lokalisation.

Obwohl die klinische und histologische Differenzierung von Psoriasis und Ekzem zur alltäglichen Routine eines Dermatologen beziehungsweise Dermatohistopathologen gehört, sind wissenschaftliche Arbeiten zur Wertigkeit der einzelnen, im speziellen histologischen Differenzierungsmerkmale, kaum in der Literatur zu finden. Gerade für die Sonderlokalisierung der palmoplantaren Region sind in der aktuellen Literatur gerade einmal 3 Arbeiten zu finden. Zum Zeitpunkt als die vorliegende Studie initiiert wurde kam gerade die Arbeit von Aydin et al. 2008 zur Veröffentlichung. In der Zwischenzeit bearbeiteten 2 weitere Publikationen das Thema (Posada et al. 2010, Yoon et al. 2012), von dem die Studie von Yoon et al. erst vor wenigen Monaten zur Veröffentlichung

kam. Posada et al. wiesen auf die Schwierigkeit einer korrekten Diagnosestellung bei Gewebeproben aus palmoplantarer Region hin. In ihrer Studie von 77 Gewebeproben blieben 68 (88,3%) ohne eindeutige Zuordnung.

5.1.1 Evaluation der Psoriasis-Kriterien

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen konnten zeigen, dass die mikroskopische Unterscheidung zwischen Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzemen durchaus schwierig ist. Bei 13 von 17 von uns untersuchten histologischen Kriterien zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen. Merkmale, die statistisch signifikant ($p < 0,05$) häufiger bei Psoriasis palmoplantaris auftraten, waren „Ortho- über Parakeratose“, „abgestufte Parakeratose“, „neutrophile Granulozyten im Stratum Corneum“, „neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose“, „Munro’sche Mikroabszesse“, „psoriasiforme Hyperplasie“, „Ausdünnung der Suprapapillarplatte“, „stellenweise Hypogranulose“, „neutrophile Granulozyten in der Epidermis“, „spongiforme Pusteln“, „subkorneale Pusteln“, „neutrophile Granulozyten am Rand der Pusteln“, „neutrophile Granulozyten als Teil des Entzündungsinfiltrats“ und „dilatierte torquierte papilläre Kapillare“.

Die gefundenen Psoriasiskriterien stehen in hoher Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Yoon et al.. Interessanterweise diskrepant war das Kriterium „neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose“, welche bei Yoon et al. nicht signifikant häufiger bei der Psoriasis palmoplantaris gefunden werden konnte. Erwähnenswert ist weiterhin, dass sowohl ihre als auch unsere Studie keinen Unterschied in dem Nachweis von eosinophilen Granulozyten zwischen beiden Erkrankungen sah.

Als klinisches Merkmal untersuchten wir das Vorhandensein einer positiven Familienanamnese. Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Patienten mit einem Hand- und Fußekzem nachgewiesen werden. Eine mögliche Ursache dafür liegt eventuell in der zum Teil nur unzureichend dokumentierten Familienanamnese unserer Patienten. Bei 32 der 80 (=40%) Patienten fand sich sowohl in der elektronischen als auch der nicht-elektronischen Patientenakte keine Angabe über Psoriasis in der Familienanamnese. Yoon et al. beurteilten zudem die Unterschiede in der Verteilung zwischen Händen und Füßen und fanden hierbei ein gehäuftes gleichzeitiges Auftreten an Händen und Füßen bei Pompholyx, wohingegen bei Psoriasis die Fußsohle als einzige Befallsregion häufiger vorkam.

Ähnliche Ergebnisse lieferte eine Studie von Aydin, Engin et al. aus dem Jahr 2008. In dieser Untersuchung wurden Hautproben von 17 Patienten mit Psoriasis palmoplantaris und 25 Patienten mit ekzematöser Dermatitis anhand von 23 histologischen Kriterien beurteilt. Die Kriterien wurden aus diversen Publikationen und Lehrbüchern übernommen (Ragaz and Ackerman 1979), (Marghescu 1994) und (Ackerman 1997). Lediglich das Kriterium „Vertikale Alternation von Parakeratose und Orthokeratose“ zeigte in ihrer Arbeit einen statistisch signifikanten Unterschied. Auch unsere Ergebnisse zeigen, dass bei der Psoriasis palmoplantaris dieses Kriterium statistisch signifikant häufiger auftritt. Beim weiteren Vergleich von unseren Ergebnissen mit den Ergebnissen von Aydin, Engin et al. fanden sich interessanterweise bei vielen Kriterien der Psoriasis palmoplantaris eine große Übereinstimmung im Sinne eines gehäuften Auftretens bei Psoriasis palmoplantaris im Vergleich zum Hand- und Fußekzem. Zum Beispiel bei den Kriterien „psoriasiforme epidermale Hyperplasie“, „spongiforme Pusteln“, „suprapapilläres Ausdünnen“, „dilatierte Papillargefäße“ und „spiralig veränderte Papillargefäße“. Gleichzeitig fanden sich Übereinstimmungen der beiden Studien im Auftreten von Kriterien, die für ein Ekzem sprechen. Zum einen beim Merkmal „ungleichmäßige epidermale Hyperplasie“ und zum anderen „eosinophile Granulozyten im Entzündungsinfiltrat“. Somit zeigten die meisten Kriterien, welche in beiden Studien untersucht wurden, die gleichen Ergebnisse im Sinne einer Übereinstimmung. Obwohl sie für sich genommen, auch aufgrund der niedrigen Fallzahlen, oft keine statistische Signifikanz zeigten, insbesondere bei den Kriterien, die für ein Ekzem sprechen, kann man doch davon ausgehen, dass die untersuchten Kriterien eine gewisse diagnostische Aussagekraft haben.

Aydin et al. kommen zu der Schlussfolgerung, dass viele charakteristische Besonderheiten der Psoriasis palmoplantaris sich mit denen der ekzematösen Dermatitis überschneiden (Aydin, Engin et al. 2008).

5.1.2 Evaluation der Ekzem-Kriterien

Bei der histologischen Untersuchung der Gewebeproben der Patienten mit Hand- und Fußekzemen fanden sich einige Kriterien bei fast allen Patienten und können somit als typisch für die Erkrankung gelten. Es wurden insgesamt 9 histologische und 5 klinische Kriterien untersucht. Aufgrund der jedoch recht geringen Fallzahl konnte nur für 2 histologische und 2 klinische Merkmale ein statistisch signifikanter Wert erreicht werden. Als statistisch signifikante histologische Ekzem-Merkmale fanden wir „ungleichmäßige

epidermale Hyperplasie“ bei 14 der 20 Ekzempatienten (=70%) sowie „Spongiose über den Reteleisten“ bei 11 der 20 Ekzempatienten (=55%).

Als statistisch signifikante klinische Merkmale fanden wir „Gesamt Serum IgE >100 kU/l“ und „Atopie in der Eigenanamnese“. Eine Erhöhung des gesamt Serum IgE auf über 100 kU/l kann natürlich die verschiedensten Ursachen haben. Zum Beispiel zeigt sich bei einer parasitären Erkrankung, bei diversen hämatologischen Erkrankungen und bei unterschiedlichen allergischen Reaktionen ein erhöhter gesamt IgE-Wert im Serum. Es zeigte sich jedoch, dass statistisch signifikant häufiger ein erhöhter gesamt IgE-Wert bei einem Ekzem im Vergleich zur Psoriasis palmoplantaris gefunden wurde.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, gibt es in der Literatur diverse Studien zum Thema Atopie und Ekzem. Auch unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass Atopie durchaus als Risikofaktor für die Entwicklung eines Hand- und Fußekzems gesehen werden kann. Bei der Untersuchung der Menge des Entzündungsinfiltrats sowie der Verteilung innerhalb der Epidermis zeigte sich bei beiden Erkrankungen schon während der ersten histologischen Untersuchung kein Unterschied zwischen den beiden Erkrankungen.

Somit kann man abschließend zusammenfassen, dass es durchaus einige sinnvolle Kriterien zur Unterscheidung zwischen Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzemen gibt, jedoch gleichzeitig eine große histologische Ähnlichkeit besteht.

5.1.3 Anwendung der statistisch signifikanten Kriterien auf die Psoriasis und Ekzempatienten zur Etablierung eines Punktesystem zur effizienten Diagnostik

Von den ursprünglich untersuchten 26 histologischen und 6 klinischen Kriterien konnten wir für 19 histologische und 2 klinische Kriterien einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Psoriasis palmoplantaris und dem Hand- und Fußekzem nachweisen. Davon wählten wir 17 Kriterien, die von uns zu einem Punktesystem zusammengefasst wurden, indem wir Pluspunkte für das Vorhandensein eines Psoriasis-Kriteriums sowie Negativpunkte für das Vorhandensein eines Ekzem-Kriteriums verteilten. Daraus ergab sich pro Patient ein Gesamtpunktwert zwischen 13 und -4. Wir definierten einen Wert von 5 und mehr Punkten als „höchstwahrscheinlich Psoriasis“, einen Punktwert von 2 und weniger als „höchstwahrscheinlich Ekzem“ und den Bereich von 3 und 4 Punkten als Graubereich. Dadurch konnten wir für 33 der 41 Patienten (=84%) eine sichere Diagnose stellen.

Im nächsten Schritt wendeten wir ein weiter vereinfachtes Punktesystem an, bei dem wir nur noch 10 der statistisch signifikanten Kriterien benutzten. Darunter waren 9 histologische und 1 klinisches Kriterium. Wir verteilten erneut Positivpunkte für das Vorhandensein eines Psoriasis-Kriteriums sowie Negativpunkte für das Vorhandensein eines Ekzem-Kriteriums. Dadurch ergab sich ein Punktebereich zwischen 6 und -4 Punkten. Wir definierten einen Wert von 2 und mehr Punkten als „höchstwahrscheinlich Psoriasis“, einen Wert von 0 und weniger Punkten als „höchstwahrscheinlich Ekzem“ und einen Wert von 1 als Graubereich. Dadurch konnten erneut die gleichen 33 Patienten sicher diagnostiziert werden. Für die schon zuvor im Graubereich liegenden Patienten konnte wieder keine eindeutige Zuordnung gefunden werden. Wir konnten also mit nur 10 Kriterien für 84% der Patienten eine sichere Diagnose finden. Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei den 8 Patienten, für die keine sichere Diagnose gefunden werden konnte, um Mischformen der beiden Erkrankungen oder um atypische Formen, welche ja rein statistisch gesehen vorkommen müssen. Eine weitere Rolle in der unklaren Diagnose könnte unter Umständen auch die unzureichende Dokumentation der anamnestischen und klinischen Kriterien sein. So findet sich zum Beispiel nur bei 3 der 8 Patienten eine Angabe zur Atopie in der Eigenanamnese.

5.1.4 Anwendung der Punktesysteme auf die diskrepanten Fälle

Durch die Anwendung des von uns erarbeiteten Punktesystems konnten wir von den 31 „diskrepanten“ Fällen 11 als Psoriasis palmoplantaris, 10 als Ekzem und 10 im Graubereich diagnostizieren. Es konnte also für 67% der diskrepanten Fälle eine Diagnose gefunden werden.

Im nächsten Schritt wendeten wir das weiter vereinfachte Punktesystem an, bei dem wir nur noch 10 der statistisch signifikanten Kriterien benutzten. Darunter waren 8 histologische und 2 klinische Kriterien. Wir verteilten erneut Positivpunkte für das Vorhandensein eines Psoriasis-Kriteriums sowie Negativpunkte für das Vorhandensein eines Ekzem-Kriteriums. Diesmal fanden wir von den 31 „diskrepanten“ Fällen 13 Psoriasis palmoplantaris, erneut 10 Hand- und Fußekzem Patienten und nur noch 8 Patienten im Graubereich. Es konnte somit für 74% der Patienten eine eindeutige Diagnose gestellt werden. Wir konnten also mit nur 10 Kriterien ziemlich sicher zwischen der Psoriasis palmoplantaris und dem Hand- und Fußekzem unterscheiden.

5.1.5 Erklärungsversuch zur Grauzone

Im Gegensatz zu den Studien von Yoon et al. und Aydin et al., in denen nur akute Fälle mit Pusteln oder Blasen eingeschlossen wurden, kamen in der vorliegenden Studie auch

chronische Fälle ohne Nachweis von Pusteln und Blasen zur Beurteilung. Dies mag zum einen Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der einzelnen Kriterien unter den 3 Studien erklären, zum anderen eröffnet es auch eine Möglichkeit zur Erklärung der nach wie vor bestehenden Grauzone des von uns vorgestellten Diagnosesystems. Während akute Fälle von Psoriasis typischerweise Pusteln und akute Fälle von Hand- und Fußekzemen Bläschen und Blasen produzieren, lässt die Neigung hierzu bei Chronifizierung beider Erkrankungen nach. Histologisch bedeutet dies bei der Psoriasis einen Verlust an neutrophilen Granulozyten, die für zahlreiche signifikanten Kriterien einer Psoriasis bedeutungsvoll sind, wie beispielsweise „neutrophile Granulozyten im Stratum Corneum“, „neutrophile Granulozyten oberhalb von Parakeratose“, „Munro’sche Mikroabszesse“, „neutrophile Granulozyten in der Epidermis“, „spongiforme Pusteln“, „subkorneale Pusteln“, „neutrophile Granulozyten am Rand der Pusteln“ und „neutrophile Granulozyten als Teil des Entzündungsinfiltrats“. Gleichsam nimmt die psoriasiforme Epidermishyperplasie zunehmend ekzematoide Formen an. Umgekehrt geht bei einem Hand- und Fußekzem die Spongiose zurück. Mit anderen Worten gehen zahlreiche wesentliche Unterscheidungskriterien mit Chronifizierung der Hauterscheinungen verloren, so dass wir glauben, dass es sich bei einem Großteil der Fälle in der Grauzone um chronifizierte Erkrankungsformen von sowohl Psoriasis als auch Hand- und Fußekzemen handelt. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit wären Mischformen, beispielsweise einer Psoriasis vulgaris mit gleichzeitig bestehender Kontaktsensibilisierung.

5.2 Hilft die JunB-Expression zur Unterscheidung von Psoriasis palmoplantaris und palmoplantaren Ekzemformen?

Um ein weiteres, möglicherweise Psoriasis spezifisches Unterscheidungsmerkmal zu finden, wurden von allen 80 histologisch untersuchten Gewebeproben zusätzlich immunhistochemische Färbungen mit JunB angefertigt. In einer Studie von Cesinaro et al. wurde versucht, den Unterschied zwischen palmoplantarer Psoriasis und Kontaktdermatitis in palmoplantarer Lokalisation mithilfe zweier immunhistochemischer Marker zu etablieren. Es zeigte sich jedoch, dass weder die Färbungen gegen Mib-1 noch gegen S100 Protein positive dendritische Zellen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Erkrankungen darstellen konnte (Cesinaro et al. 2009). Da es bisher noch keine Studien zur Proteinexpression von JunB bei Hand- und Fußekzemen gab, entschlossen wir uns JunB als möglichen immunhistochemischen Marker zu etablieren.

Wir vermuteten, dass die JunB Proteinexpression bei Patienten mit Psoriasis palmoplantaris deutlich erhöht ist, im Vergleich zu Patienten mit Hand- und Fußekzem. Diese Vermutung stützte sich unter anderem auf die Ergebnisse der Studien der JunB-Expression bei Psoriasis vulgaris Patienten von Johansen und Kulski (Johansen, Kragballe et al. 2004; Kulski, Kenworthy et al. 2005).

Es zeigte sich bei allen untersuchten immunhistochemisch gefärbten Schnitten eine deutliche Überexpression von JunB im Vergleich zu gesunder Haut der Handflächen und Fußsohlen. Unsere Ergebnisse stimmen also mit denen von Johansen und Kulski in diesem Punkt überein. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass auch diese ganz spezielle Form der Psoriasis, die Psoriasis palmoplantaris, eine starke Überexpression von JunB im Vergleich zu gesunder Haut der Handflächen und Fußsohlen zeigt. Zur Unterscheidung zwischen Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzem eignet sich JunB jedoch nicht, da in unseren Untersuchungen auch beim Hand- und Fußekzem die Expression von JunB erhöht war.

Aufgrund dieser neuen Ergebnisse entschlossen wir uns weitere dermatologische Erkrankungen in palmoplantarer Lokalisation bezüglich ihrer JunB Expression zu untersuchen. Es wurden jeweils 5 Patienten mit einem malignen Melanom, Basaliom und Spinaliom in palmoplantarer Lokalisation, sowie Psoriasis vulgaris und chronischem Ekzem in nicht palmoplantarer Lokalisation ausgewählt. Genau wie bei den Patienten mit Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzem wurden immunhistochemische Färbungen mit JunB durchgeführt und anschließend die Expression in den einzelnen Schichten untersucht. Dabei zeigte sich eine konstant starke JunB Überexpression in Gewebeproben von Patienten mit Psoriasis vulgaris und Patienten mit einem Spinaliom. Interessanterweise war bei Patienten mit einem Basaliom die JunB-Expression nur mäßig erhöht. Patienten mit einem chronischen Ekzem zeigten in allen 3 Schichten der Epidermis eine mittelstarke Überexpression von JunB. Diese Ergebnisse unterstützen unsere Hypothese, dass JunB vor allem bei akuten Entzündungen überexprimiert wird. Bei eher langsam verlaufenden Erkrankungen wie dem Basaliom fand sich dementsprechend eine deutlich geringere JunB Färbung. Es zeigte sich, dass die Expression von JunB kongruent zur Menge und Stärke der Entzündung und des Entzündungsinfiltrats ansteigt.

Die Ergebnisse der JunB Färbungen der 5 Melanom Patienten brachte ein sehr uneinheitliches Ergebnis. In 4 von 5 Fällen fand sich eine dem Basaliom vergleichbare eher

geringe JunB-Expression. In einem Fall fand sich jedoch eine sehr starke JunB-Expression. Somit lässt sich durch die vorliegende Arbeit kein eindeutiges Ergebnis erzielen. Diese Resultate sollten in weiteren Studien überprüft werden.

Es wurden jedoch auch bei anderen Tumorerkrankungen Untersuchungen zur Rolle von JunB gemacht, so zum Beispiel beim Hepatozellulären Karzinom (Guo, Liu et al. 2009), beim Mundhöhlen Karzinom (Mishra, Bharti et al. 2009), beim Prostata Karzinom (Konishi, Shimada et al. 2008) und vielen anderen Karzinomen. Es konnte auch beim kolorektalen Adenokarzinom durch immunhistochemische Färbungen gegen JunB und Western Immunoblotting eine starke Überexpression von JunB nachgewiesen werden, wohingegen in normaler Mukosa fast kein JunB nachgewiesen werden konnte (Wang, Birkenbach et al. 2000). Weiterhin finden sich viele Arbeiten zur Rolle von JunB bei diversen hämato-onkologischen Erkrankungen. Bereits 1992 konnte gezeigt werden, dass JunB als Tumor Progressions Faktor direkt an der Entstehung und Proliferation von Fibrosarkom-Zelllinien beteiligt ist. Auch hier konnte durch immunhistochemische Färbung eine deutliche Überexpression von JunB im Vergleich zu gesunden Zellen nachgewiesen werden (Bossy-Wetzel, Bravo et al. 1992). Troen et al. konnten 2004 beim Marginalzonenlymphom durch immunhistochemische Färbungen gegen JunB eine starke Überexpression von JunB zeigen (Troen, Nygaard et al. 2004).

Um die klinische und therapeutische Relevanz dieser Ergebnisse zu untersuchen, machten Gurzov et al. 2007 verschiedene Versuche an Mäusen, die mit Melanom abgeleiteten B16-F10 Tumorzellen infiziert wurden. Der Knockdown von JunB in Kombination mit der Inaktivierung von c-Jun/JNK führte zu einer Verkleinerung der Tumormasse und einem längeren Überleben der Mäuse (Gurzov, Bakiri et al. 2008). Natürlich sind noch weitere Untersuchungen nötig, um ein besseres Verständnis der Rolle von JunB bei der Tumorentstehung zu bekommen, aber es besteht die Hoffnung, hier einen möglichen Angriffspunkt für eine Anti-Tumor Therapie gefunden zu haben.

2003 wurde von Mao et al. anhand von 69 Gewebeproben von Patienten mit Kutanem T-Zell Lymphomen gezeigt, dass JunB möglicherweise eine kritische Rolle in der Pathogenese dieser Erkrankung spielt. Sie fanden eine erhöhte Expression von JunB in Zellkernen der Tumorzellen in ihren immunhistochemischen Färbungen. Gleichzeitig untersuchten sie die JunB Amplifikation mittels real-time-polymerase chain reaction (RT-PCR) und fanden auch mit dieser Methode einen erhöhten JunB Gehalt (Mao, Orchard et al. 2003) in den Tumorzellen. Diese Ergebnisse zeigen, dass JunB nicht nur bei

der Psoriasis vulgaris, sondern auch bei anderen T-Zell assoziierten Hauterkrankungen wie dem Kutanen T-Zell Lymphom eine besondere Bedeutung hat.

Schon 1998 wurden erste Untersuchungen zur gewebespezifischen Expression von JunB während der Organogenese bei der Maus gemacht. Wilkinson et al. untersuchten mittels in situ Hybridisierung die Expressionsmuster von JunB während der Organogenese. Ab Tag E17.5 fand sich JunB vor allem im endodermalen Darmepithel und differenzierenden epidermalen Hautzellen. Diese Expressionsmuster lassen vermuten, dass JunB eine spezielle, gewebespezifische Rolle in der Zellproliferation und Zelldifferenzierung während der fetalen Entwicklung der Maus spielt. Insbesondere die starke Expression in differenzierenden epidermalen Hautzellen ist interessant für das Verständnis der Rolle von JunB in der Haut und bei Hauterkrankungen wie zum Beispiel bei der Psoriasis palmoplantaris oder bei Hand- und Fußekzemen (Wilkinson, Bhatt et al. 1989).

Wie wichtig JunB für die Entwicklung des Mausembryos ist, konnten Schorpp-Kistner et al. 1999 in einer Forschungsarbeit an JunB Knockout Mäusen zeigen. Der JunB Knockout führte bei den Mäusen zu einer unzureichenden feto-maternalen Interaktion und dadurch zu einer mangelnden Ausbildung eines einwandfreien feto-maternalen Kreislaufsystems im Sinne einer nicht vaskularisierten Plazenta und in der Folge zu einem Sterben aller Mäuse zwischen Tag E8.5 und E10.0. Injektion von JunB $-/-$ embryonalen Stammzellen in tetraploide wild-typ Blastozysten führte zu einer Teilverbesserung der Entwicklung sowie einer normalen Vaskularisierung der Plazenta. Diese Ergebnisse konnten somit beweisen, dass JunB essentiell für die Entwicklung des Mausembryos ist (Schorpp-Kistner, Wang et al. 1999).

Wie komplex der Einfluss von JunB im Hinblick auf Differenzierung, Proliferation, Apoptose und Transformation von Zellen ist, wurde in verschiedenen Forschungsarbeiten gezeigt. So wurde nachgewiesen, dass c-jun und JunB antagonistisch die zytokin-regulierte mesenchymal-epidermale Interaktion in der Haut kontrollieren. Die fein regulierte Balance zwischen Proliferation und Differenzierung wird vor allem während der Wundheilung temporär verändert, um die Keratinozytenproliferation zu stimulieren und dadurch die Regeneration der Epidermis zu verbessern. Szabowski et al. vermuten, dass das Abweichen vom Gleichgewicht zwischen den Zytokinen zu Erkrankungen wie Lichen planus, Psoriasis oder Dermatofibrose führen könnte (Szabowski, Maas-Szabowski et al. 2000). Diese Forschungsarbeiten unterstützen die Ergebnisse unserer

immunohistochemischen Färbung gegen JunB, da auch wir bei verschiedensten Hauterkrankungen eine Veränderung der Expression von JunB im Vergleich zu gesunder Haut nachweisen konnten.

In einem Kommentar von Hess von 2004 mit dem Titel „AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings“, was soviel heißt wie „AP-1 Untereinheiten: Streit und Harmonie unter Geschwistern“, wird auf die Komplexität des AP-1 Transkriptions Faktors eingegangen. Der AP-1 Faktor Komplex besteht überwiegend aus Jun, Fos und ATF Protein-Dimeren, welche die Genregulation als Antwort auf eine Fülle von physiologischen und pathologischen Stimuli wie Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Stress Signalen, bakteriellen und viralen Infektionen als auch onkogene Stimuli kontrolliert. Es gibt immer mehr Anhaltspunkte dafür, dass der Beitrag von AP-1 bezüglich des Schicksals einer Zelle stark davon abhängt, wie viel AP-1 Untereinheiten vorhanden sind, wie die Verteilung der einzelnen Untereinheiten ist, welche Qualität der Stimulus hat, um welchen Zelltyp es sich handelt und um welches zelluläre Umfeld. Hess et al. kommen zu dem Ergebnis, dass AP-1 vermittelte Regulationsprozesse im Kontext eines komplexen dynamischen Netzwerk von Signalübertragungen und anderen Zellkern vermittelten Faktoren, welche gleichzeitig reagieren, gesehen werden müssen (Hess, Angel et al. 2004).

2005 erschien in Nature ein Artikel von Zenz et al. mit dem Titel: „Psoriasis-like skin disease and arthritis caused by inducible epidermal deletion of Jun proteins“. Der spezifische epidermale und dermale Knockout von JunB und cJun an Mäusen führte zu ähnlichen Hauterscheinungen wie sie bei Psoriasis vulgaris beim Menschen beobachtet werden. Daraus folgerten sie, dass die JunB Expression in von Psoriasis befallener Haut erniedrigt sein sollte im Vergleich zu gesunder Haut der gleichen Patienten (Zenz, Eferl et al. 2005)

Dass es jedoch durchaus problematisch ist, Ergebnisse von Maus-Modellen auf den Menschen zu übertragen, zeigt sich ganz besonders in der Psoriasis-Forschung (Gudjonsson, Johnston et al. 2007). Ein großes Problem ist, dass bis auf zwei Berichte, über einen Rhesus-Affen (Lowe, Breeding et al. 1981) und über einen Cynomolgus-Affen (Zanolli, Jayo et al. 1989) bisher Psoriasis bei keiner anderen Tierart außer dem Menschen gefunden wurde. Das Fehlen eines brauchbaren Tiermodells hat die Forschung über die Pathogenese der Psoriasis bisher stark behindert. Dennoch wurden in den letzten 20 Jahren viele verschiedene gentechnisch veränderte Maus-Modelle be-

nutzt, welche unterschiedliche Aspekte der Psoriasis vulgaris widerspiegeln sollten. Man muss sich jedoch immer dabei im Klaren sein, dass sich die Haut einer Maus in vielerlei Hinsicht grundlegend von der des Menschen unterscheidet. Schon et al. konnten zeigen, dass sich in menschlicher Epidermis die Proteinexpression in der äußeren Haarwurzelscheide der Haarfollikel von dem interfollikulären Bereich stark unterscheidet, was bei Mäusen so nicht der Fall ist. Es finden sich weiterhin bei der Maus in den kurzen interfollikulären Regionen keine Reteleisten (Schon, Blume-Peytavi et al. 1995). Generell ist die Haut bei Mäusen nur ein viertel so dick wie beim Menschen und zeigt einen schnelleren epidermalen Durchsatz (Berking, Takemoto et al. 2002). Auch die Wundheilung verläuft bei der Maus viel effektiver und die Narbenbildung hinterlässt bei der Maus so gut wie keine Narbenfläche (Khavari 2006). Somit unterscheidet sich die Haut der Maus in vielen wichtigen Punkten von der des Menschen.

Desweiteren unterscheidet sich das Immunsystem der Maus von dem des Menschen deutlich. So gibt es zum Beispiel bei der Maus verschiedene Subtypen von dendritischen Zellen, wie die CD8 positiven dendritischen Zellen oder andere Entzündungszellen wie die dendritischen epidermalen T-Zellen oder die NK1.1 positiven T-Zellen, welche alle beim Menschen so nicht zu finden sind (Godfrey, Hammond et al. 2000) (Ardavin 2003) (Jameson, Sharp et al. 2004).

Ein weiteres Problem ergibt sich aus der Tatsache, dass bei den Maus-Modellen meist nur ein oder wenige Gene modifiziert wurden, Psoriasis jedoch eine multifaktorielle Erkrankung ist, bei der viele verschiedene Gen-Regionen betroffen sind (Bowcock and Cookson 2004). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Untersuchungen zur Entstehung der Psoriasis vulgaris bei Mäusen aufgrund der doch beträchtlichen Unterschiede zwischen Menschen und Mäusen immer mit einer gewissen Vorsicht beurteilt werden sollten. Daraus ergibt sich, dass Untersuchungen zur Expression von Proteinen bei Psoriasis vulgaris, welche direkt an menschlichem Gewebe gemacht wurden, immer eine stärkere Aussage zulassen. Somit können wir davon ausgehen, dass unsere Ergebnisse der Untersuchung zur Expression von JunB bei Psoriasis palmoplantaris, beim Hand- und Fußekzem sowie anderen Hauterkrankungen durchaus eine hohe Aussagekraft haben.

Unsere Ergebnisse werden gestützt durch die Resultate anderer Forschungsarbeiten. Zum Beispiel konnten Johansen et al. 2004 eine erhöhte Expression von JunB-mRNA und JunB-Protein in Gewebeproben von Psoriasis-Patienten finden. Um auch den Ein-

fluss eines aktuellen Psoriasis Therapeutikums zu testen, untersuchten sie die JunB Protein-Expression nach einer Behandlung mit Calcipotriol. Hierbei zeigte sich eine deutliche Reduktion der Jun-Expression (Johansen, Kragballe et al. 2004). Andere Untersuchungen kamen zu demselben Ergebnis. Kulski et al. fanden in einer Gene-Profilings-Studie bei japanischen Psoriasis Patienten eine erhöhte JunB mRNA-Expression (Kulski, Kenworthy et al. 2005). Da jedoch Zenz et al. in ihren Untersuchungen 2005 postulierten, dass die JunB-Expression in von Psoriasis befallener Haut im Vergleich zu gesunder Haut der gleichen Patienten erniedrigt sein sollte, machten Haider et al. 2006 eine weitere Untersuchung über die Expression von JunB in befallener Haut von 26 Patienten mit Psoriasis vulgaris. Interessanterweise fanden sie sowohl eine signifikante Erhöhung der JunB Protein-Expression, als auch eine signifikante Erhöhung der JunB mRNA-Expression. Auch sie wollten beobachten, wie sich die JunB mRNA-Expression nach einer Behandlung mit Cyclosporin verändert. Wie erwartet fanden sie auch hier als Reaktion auf die Therapie eine Reduktion der JunB mRNA-Expression. Sie vermuteten, dass eine erhöhte Expression von JunB in Keratinozyten Teil einer allgemeinen Entzündungsreaktion ist (Haider, Duculan et al. 2006). Da auch unsere Ergebnisse diese Auffassung unterstützen, lässt sich somit JunB nicht als Differenzierungsmarker zwischen Psoriasis palmoplantaris und Hand- und Fußekzem verwenden. Da es bisher keinerlei Untersuchungen zum Protein Expressionsmuster von JunB beim Hand- und Fußekzem gab, ist durch unsere Arbeiten auch die Grundlage für weitere Forschungsarbeiten gelegt worden. Da es sich bei diesen Erkrankungen jedoch um zum Teil bisher äußerst wenig erforschte Erkrankungen handelt, sind noch weitere Arbeiten zur Pathogenese sowie zur Diagnostik nötig.

Zusammenfassung

Die histologische Differenzierung zwischen Psoriasis und Ekzem in palmoplantarer Region kann äußerst schwierig sein. Zur Anwendung kommen im Wesentlichen dieselben Kriterien wie in nicht-palmoplantarer Region. Es stellt sich daher die Frage, in wie weit diese Kriterien überhaupt und im Speziellen in palmoplantarer Region zur Unterscheidung beider Erkrankungstypen geeignet sind. Wir führten eine Studie an 80 Patienten mit entzündlichen Dermatosen in palmoplantarer Region durch. Die Patienten wurden in 3 Gruppen eingeteilt: in „höchstwahrscheinlich Psoriasis (n=29) bzw. Ekzem (n=20)“ bei Übereinstimmung von klinischer und histologischer Verdachtsdiagnose und in „diskrepante Fälle“ (n=31) bei Nichtübereinstimmung. Zur Evaluation kamen 32 Unterscheidungsmerkmale, davon 17 histologische und ein klinisches Kriterium für Psoriasis sowie 9 histologische und 5 klinische für Ekzem. Von diesen waren 17 statistisch signifikant zwischen den Krankheitsgruppen Psoriasis und Ekzem verteilt und somit zur Differenzierung geeignet. Diese 17 Kriterien wurden in ein einfaches numerisches Diagnosesystem eingebracht (+1 pro Psoriasis-kriterium; -1 pro Ekzem-kriterium). Hierdurch ergab sich eine korrekte Zuordnung in 84% der Fälle. Eine Streichung ähnlicher histologischer Kriterien erbrachte eine Vereinfachung des Systems auf nur noch 10 Kriterien bei gleichbleibender diagnostischer Genauigkeit. Eine Anwendung dieses Systems auf die 31 diskrepanten Fälle ermöglichte eine Zuordnung von 23 Patienten (13 Psoriasis, 10 Ekzem). Die verbleibende Grauzone und damit Schwäche des Systems lässt sich am ehesten durch einen chronifizierten Zustand der Dermatosen erklären, bei dem sowohl die klinischen als auch die histologischen krankheitstypischen Merkmale verloren gehen und sich Psoriasis und Ekzemformen in ihrem Erscheinungsbild annähern.

Unter der Kenntnis einer Zuordnungsquote von 84% sollte das vorgestellte numerische Diagnosesystem zukünftig in der Differenzierung von Psoriasis und Ekzem in palmoplantarer Region Anwendung finden.

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen Überexpression von JunB bei Psoriasis, versuchten wir diesen als Differenzierungsmarker zu etablieren. Bei beiden Erkrankungen fand sich eine relativ hohe JunB Expression durch alle Epidermisschichten, die keinerlei Differenzierung zwischen den Erkrankungen ermöglichte.

Literaturverzeichnis

- Abeck, D. Haneke, E., Nolting, S., Reinel, D., Seebacher, C. (2000). Onychomykose
Deutsches Ärzteblatt 97:A 1984-1986
- Ackerman, A., Ed. (1997). Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases. An algorithmic method based on pattern analysis, Lippincott Williams and Wilkens 365-6.
- Agrup, G. (1969). "Hand eczema and other hand dermatoses in south Sweden." Acta Derm Venereol (Stockh) 49(Suppl 61): 5-91.
- Angel, P., M. Imagawa, et al. (1987). "Phorbol ester-inducible genes contain a common cis element recognized by a TPA-modulated trans-acting factor." Cell 49(6): 729-39.
- Angel, P. and M. Karin (1991). "The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation." Biochim Biophys Acta 1072(2-3): 129-57.
- Ardavin, C. (2003). "Origin, precursors and differentiation of mouse dendritic cells." Nat Rev Immunol 3(7): 582-90.
- Aydin, O., B. Engin, et al. (2008). "Non-pustular palmoplantar psoriasis: is histologic differentiation from eczematous dermatitis possible?" J Cutan Pathol 35(2): 169-73.
- Berger, K., B. Ehlken, et al. (2005). "Cost-of-illness in patients with moderate and severe chronic psoriasis vulgaris in Germany." J Dtsch Dermatol Ges 3(7): 511-8.
- Berking, C., R. Takemoto, et al. (2002). "Photocarcinogenesis in human adult skin grafts." Carcinogenesis 23(1): 181-7.
- Boenisch, T., Ed. (2001). Immunochemical Staining Methods. Handbook, DAKO Coperation Carpinteria CA USA.
- Bossy-Wetzell, E., R. Bravo, et al. (1992). "Transcription factors junB and c-jun are selectively up-regulated and functionally implicated in fibrosarcoma development." Genes Dev 6(12A): 2340-51.
- Bowcock, A. M. and W. O. Cookson (2004). "The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis." Hum Mol Genet 13 Spec No 1: R43-55.

- Brandrup, F., N. Holm, et al. (1982). "Psoriasis in monozygotic twins: variations in expression in individuals with identical genetic constitution." Acta Derm Venereol **62**(3): 229-36.
- Braun-Falco, O. (2005). Dermatologie und Venerologie. Berlin, Springer.
- Burden, A. D., S. Javed, et al. (1998). "Genetics of psoriasis: paternal inheritance and a locus on chromosome 6p." J Invest Dermatol **110**(6): 958-60.
- Cesinaro AM, Nannini N, Migaldi M, Pepe P, Maiorana A. Psoriasis vs allergic contact dermatitis in palms and soles: a quantitative histologic and immunohistochemical study. APMIS 2009; 117: 629-34.
- Christophers, E. (2001). "Psoriasis--epidemiology and clinical spectrum." Clin Exp Dermatol **26**(4): 314-20.
- David Weedon. SKIN Pathology. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York 2002
- David E. Elder, Rosalie Elenitsas, Bennett L. Johnson Jr. George F. Murphy (Eds.)
Lever's Histopathology of the Skin. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005
- de Boer, E. M., D. P. Bruynzeel, et al. (1988). "Dyshidrotic eczema as an occupational dermatitis in metal workers." Contact Dermatitis **19**(3): 184-8.
- Edman, B. (1988). "Palmar eczema: a pathogenetic role for acetylsalicylic acid, contraceptives and smoking?" Acta Derm Venereol **68**(5): 402-7.
- Eferl, R. and E. F. Wagner (2003). "AP-1: a double-edged sword in tumorigenesis." Nat Rev Cancer **3**(11): 859-68.
- Farber, E. M. and M. L. Nall (1974). "The natural history of psoriasis in 5,600 patients." Dermatologica **148**(1): 1-18.
- Farber, E. M., M. L. Nall, et al. (1974). "Natural history of psoriasis in 61 twin pairs." Arch Dermatol **109**(2): 207-11.
- Farber EM, N. M., Ed. (1998). Epidemiology : Natural history and genetics. Psoriasis. New York, Marcel Dekker.
- Fox, T. (1873). "Dyshidrosis: an undescribed eruption." Br Med J(2): 365-6.
- Fox, T. (1873). "On dyshidrosis." Am J Syph Dermatol **4**: 1-7.
- Friedrich, C., U. Lenz, et al. (1973). "[Isolated psoriasis of hands and feet and its differential diagnosis]." Dermatol Monatsschr **159**(3): 235-41.
- Fritsch, P., Ed. (2003). Dermatologie Venerologie. Berlin, Springer.
- Frosch PJ, Rustemeyer Th, Schnuch A (1996). Kontaktdermatitis I. Hautarzt 47: 874-882

- Frosch PJ, Rustemeyer Th, Schnuch A (1996). Kontaktdermatits II. *Hautarzt* 47: 945-961
- Godfrey, D. I., K. J. Hammond, et al. (2000). "NKT cells: facts, functions and fallacies." *Immunol Today* 21(11): 573-83.
- Gudjonsson, J. E., A. Johnston, et al. (2007). "Mouse models of psoriasis." *J Invest Dermatol* 127(6): 1292-308.
- Guo, C., Q. G. Liu, et al. (2009). "Expression and clinical significance of p53, JunB and KAI1/CD82 in human hepatocellular carcinoma." *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 8(4): 389-96.
- Gurzov, E. N., L. Bakiri, et al. (2008). "Targeting c-Jun and JunB proteins as potential anticancer cell therapy." *Oncogene* 27(5): 641-52.
- Haider, A. S., J. Duculan, et al. (2006). "Increased JunB mRNA and protein expression in psoriasis vulgaris lesions." *J Invest Dermatol* 126(4): 912-4.
- Hess, J., P. Angel, et al. (2004). "AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings." *J Cell Sci* 117(Pt 25): 5965-73.
- Hsu, S. M., L. Raine, et al. (1981). "Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures." *J Histochem Cytochem* 29(4): 577-80.
- Hutchinson, J. (1876). "Cheiro-pompholyx: notes of a clinical lecture." *Lancet*(1): 630-1.
- Jameson, J. M., L. L. Sharp, et al. (2004). "Regulation of skin cell homeostasis by gamma delta T cells." *Front Biosci* 9: 2640-51.
- Jochum, W., E. Passegue, et al. (2001). "AP-1 in mouse development and tumorigenesis." *Oncogene* 20(19): 2401-12.
- Johansen, C., K. Kragballe, et al. (2004). "Activator protein 1 DNA binding activity is decreased in lesional psoriatic skin compared with nonlesional psoriatic skin." *Br J Dermatol* 151(3): 600-7.
- Kenny, J. (1971). Psoriasis in the American black. *Stanford University Press*. Psoriasis: proceedings of the International Symposium, Farber EM, Cox AJ: 49-52.
- Khavari, P. A. (2006). "Modelling cancer in human skin tissue." *Nat Rev Cancer* 6(4): 270-80.
- Konishi, N., K. Shimada, et al. (2008). "Function of JunB in transient amplifying cell senescence and progression of human prostate cancer." *Clin Cancer Res* 14(14): 4408-16.

- Krueger, J.G., Bowcock A., et al. (2005). "Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis." *Ann Rheum Dis* 2005;64(Suppl II): ii30-ii36.
- Kulski, J. K., W. Kenworthy, et al. (2005). "Gene expression profiling of Japanese psoriatic skin reveals an increased activity in molecular stress and immune response signals." *J Mol Med* 83(12): 964-75.
- Lee, W., P. Mitchell, et al. (1987). "Purified transcription factor AP-1 interacts with TPA-inducible enhancer elements." *Cell* 49(6): 741-52.
- Lee, Y. A., F. Ruschendorf, et al. (2000). "Genomewide scan in german families reveals evidence for a novel psoriasis-susceptibility locus on chromosome 19p13." *Am J Hum Genet* 67(4): 1020-4.
- Lever, W., Ed. (1997). *Lever's Histopathology of the skin*, Lippincott Williams and Wilkens
- Lodi, A., R. Betti, et al. (1992). "Epidemiological, clinical and allergological observations on pompholyx." *Contact Dermatitis* 26(1): 17-21.
- Lofgren, S. M. and E. M. Warshaw (2006). "Dyshidrosis: epidemiology, clinical characteristics, and therapy." *Dermatitis* 17(4): 165-81.
- Lomholt, G. (1963). Psoriasis. Prevalence, Spontaneous Course, and Genetics. GEC. Copenhagen.
- Lomholt, G. (1964). "Prevalence of Skin Diseases in a Population; a Census Study from the Faroe Islands." *Dan Med Bull* 11: 1-7.
- Lowe, N. J., J. Breeding, et al. (1981). "Psoriasiform dermatosis in a rhesus monkey." *J Invest Dermatol* 76(2): 141-3.
- Magina, S., M. A. Barros, et al. (2003). "Atopy, nickel sensitivity, occupation, and clinical patterns in different types of hand dermatitis." *Am J Contact Dermat* 14(2): 63-8.
- Mao, X., G. Orchard, et al. (2003). "Amplification and overexpression of JUNB is associated with primary cutaneous T-cell lymphomas." *Blood* 101(4): 1513-9.
- Marghescu, S. (1994). "Palmoplantar reactions." *Dermatology* 189 Suppl 2: 30-4.
- Meenan FO (1955) A note on the history of psoriasis. Irish Journal of Medical Science. Volume 30, Number 3. March 1955 pp 141-142
- Metze D. (2007) "Von der Hautbiopsie zur Diagnose" *Hautarzt*. 2007 Sep;58(9):735-45.
- Mishra, A., A. C. Bharti, et al. (2009). "Transactivation and expression patterns of Jun and Fos/AP-1 super-family proteins in human oral cancer." *Int J Cancer*.

- Morris, A., M. Rogers, et al. (2001). "Childhood psoriasis: a clinical review of 1262 cases." *Pediatr Dermatol* **18**(3): 188-98.
- Nevitt GJ und Hutchinson PE. Psoriasis in the community: prevalence, severity and patients' beliefs and attitudes towards the disease. *Br J Dermatol* 1996;135(4): 533-7
- Pasic, A., J. Lipozencic, et al. (1989). "Contact allergy in psoriatic patients with palmar and plantar lesions." *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* **146**: 66-8.
- Petty, A. A., R. Balkrishnan, et al. (2003). "Patients with palmoplantar psoriasis have more physical disability and discomfort than patients with other forms of psoriasis: implications for clinical practice." *J Am Acad Dermatol* **49**(2): 271-5.
- Posadas, C, Garcia-Doval I, de la Torre C, Cruces MJ (2010) "Value of palmar and plantar biopsies of hyperkeratotic and vesicular pustular lesions: a cross-sectional study." *Actas Dermosifiliogr*. 2010 Jan-Feb; 101(1): 103-5.
- Ragaz, A. and A. B. Ackerman (1979). "Evolution, maturation, and regression of lesions of psoriasis. New observations and correlation of clinical and histologic findings." *Am J Dermatopathol* **1**(3): 199-214.
- Schon, M. P., U. Blume-Peytavi, et al. (1995). "The human hair follicle: glycoprotein-related antigenic profile of distinct keratinocyte populations in vivo and their alterations in vitro." *Arch Dermatol Res* **287**(6): 591-8.
- Schon, M. P. and W. H. Boehncke (2005). "Psoriasis." *N Engl J Med* **352**(18): 1899-912.
- Schorpp-Kistner, M., Z. Q. Wang, et al. (1999). "JunB is essential for mammalian placentation." *Embo J* **18**(4): 934-48.
- Shelley, W. B. (1953). "Dysidrosis (pompholyx)." *AMA Arch Derm Syphilol* **68**(3): 314-9.
- Szabowski, A., N. Maas-Szabowski, et al. (2000). "c-Jun and JunB antagonistically control cytokine-regulated mesenchymal-epidermal interaction in skin." *Cell* **103**(5): 745-55.
- Trembath, R. C., R. L. Clough, et al. (1997). "Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis." *Hum Mol Genet* **6**(5): 813-20.
- Troen, G., V. Nygaard, et al. (2004). "Constitutive expression of the AP-1 transcription factors c-jun, junD, junB, and c-fos and the marginal zone B-cell transcription factor Notch2 in splenic marginal zone lymphoma." *J Mol Diagn* **6**(4): 297-307.

- van Straaten, F., R. Muller, et al. (1983). "Complete nucleotide sequence of a human c-onc gene: deduced amino acid sequence of the human c-fos protein." Proc Natl Acad Sci U S A **80**(11): 3183-7.
- Wang, H., M. Birkenbach, et al. (2000). "Expression of Jun family members in human colorectal adenocarcinoma." Carcinogenesis **21**(7): 1313-7.
- Watson, W., H. M. Cann, et al. (1972). "The genetics of psoriasis." Arch Dermatol **105**(2): 197-207.
- Weedon, D., Ed. (2002). Skin Pathology, Churchill Livingston.
- Wilkinson, D. G., S. Bhatt, et al. (1989). "Tissue-specific expression of c-jun and junB during organogenesis in the mouse." Development **106**(3): 465-71.
- Yoon, S.Y., Park H.S., Lee J.H., Cho S. (2012). "Histological differentiation between palmoplantar pustulosis and pompholyx." J Eur Acad Dermatol Venereol. 2012 Jun 13. doi: 10.1111/j.1468-3083.2012.04602.x.
- Zanolli, M. D., M. J. Jayo, et al. (1989). "Evaluation of psoriatic plaques that spontaneously developed in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*)." Acta Derm Venereol Suppl (Stockh) **146**: 58.
- Zenz, R., R. Eferl, et al. (2005). "Psoriasis-like skin disease and arthritis caused by inducible epidermal deletion of Jun proteins." Nature **437**(7057): 369-75.
- Zenz, R. and E. F. Wagner (2006). "Jun signalling in the epidermis: From developmental defects to psoriasis and skin tumors." Int J Biochem Cell Biol **38**(7): 1043-9.

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Markus Braun-Falco danke ich für die Vergabe des Dissertationsthemas, die wissenschaftliche Betreuung, die Geduld die er mit mir hatte und die stets konstruktive Kritik.

Weiterhin geht mein Dank an die und Kolleginnen und Kollegen und MTAs des histologischen und molekulargenetischen Labors der Universitäts-Hautklinik Freiburg, ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht entstanden wäre.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen meinen Freunden, die mich stets motiviert und unterstützt haben, jeder auf seine Weise.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, Matthias, Susanne, Mimi, Jojo und Philipp.

